



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LOUISE FARAH SALIBA

RESPOSTA À RESTRIÇÃO CALÓRICA POR MEIO DE
UMA INTERVENÇÃO DIETÉTICA PARA REDUÇÃO DE PESO
EM MULHERES OBESAS PORTADORAS DE POLIMORFISMOS
DOS GENES *ADRB2*, *ADRB3* E *GHRL*.

CURITIBA
2014

LOUISE FARAH SALIBA

RESPOSTA À RESTRIÇÃO CALÓRICA POR MEIO DE
UMA INTERVENÇÃO DIETÉTICA PARA REDUÇÃO DE PESO
EM MULHERES OBESAS PORTADORAS DE POLIMORFISMOS
DOS GENES *ADRB2*, *ADRB3* E *GHRL*.

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós
Graduação, Departamento de Genética, Setor de
Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Professora Dra. Lupe Furtado Alle

CURITIBA
2014

Universidade Federal do Paraná
Sistema de Bibliotecas

Saliba, Louise Farah

Resposta à restrição calórica por meio de uma intervenção dietética para redução de peso em mulheres obesas portadoras de polimorfismos dos genes ADRB2, ADRB3 e GHRL. / Louise Farah Saliba. – Curitiba, 2014.

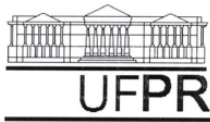
140 f.: il. ; 30cm.

Orientadora: Lupe Furtado Alle

Tese (doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Genética.

1. Polimorfismo (Genética) 2. Obesidade 3. Perda de peso 4. Nutrição - Aspectos genéticos I. Título II. Alle, Lupe Furtado III. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Genética.

CDD (20. ed.) 573.21



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE GENÉTICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA



**Ata da Defesa de Tese de Doutorado de
LOUISE FARAH SALIBA**

Aos nove dias do mês de maio do ano de dois mil e quatorze, foi realizada na sala sessenta e sete do Departamento de Genética do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, a Defesa de Tese da doutoranda **LOUISE FARAH SALIBA**, intitulada "Efeito de uma intervenção dietética para redução de peso em mulheres obesas portadoras de variantes dos genes ADRB2, ADRB3 e GHRL". A abertura teve início às quatorze horas pelo Doutor **Ricardo Lehtonen Rodrigues de Souza**, Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Genética, que em seguida passou a palavra à Presidente da Banca Examinadora e Orientadora da aluna, Professora Doutora **Lupe Furtado Alle**, do Departamento de Genética da Universidade Federal do Paraná. A Presidente apresentou ao público presente os membros da Banca Examinadora e passou a palavra à aluna para que fizesse a apresentação sucinta da sua Tese. Após a explanação oral, a Doutora **Lupe Furtado Alle** passou a palavra à primeira examinadora, Doutora **Maria Eliana Madalozzo Schieferdecker**, do Departamento de Nutrição da Universidade Federal do Paraná. Em seguida, passou a palavra à segunda examinadora, Doutora **Regina Maria Vilela**, do Departamento de Nutrição da Universidade Federal do Paraná. Na sequência, passou a palavra à terceira examinadora, Doutora **Vanessa Sotomaior**, da Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Em seguida, a quarta examinadora, Doutora **Nina Amália Brancia Pagnan**, do Departamento de Genética da Universidade Federal do Paraná, fez suas considerações. Findas as arguições pelos membros da banca, a Doutora **Lupe Furtado Alle** fez uma rápida apreciação das conclusões mais importantes dos debates realizados e comunicou que a Banca Examinadora iria proceder à discussão para atribuição dos conceitos, reunindo-se em sessão secreta. Os trabalhos foram interrompidos por cinco minutos. Após, foram proclamados os conceitos atribuídos pela Banca Examinadora, a seguir descritos: Doutora **Maria Eliana Madalozzo Schieferdecker**, conceito "A"; Doutora **Regina Maria Vilela**, conceito "A"; Doutora **Vanessa Sotomaior**, conceito "A"; Doutora **Nina Amália Brancia Pagnan**, conceito "A"; Doutora **Lupe Furtado Alle**, conceito "A", com o conceito médio final "A". Tendo cumprido o que dita o artigo setenta e cinco das Normas Internas do Programa, a candidata cumpriu os requisitos para obtenção do grau de Doutora em Genética. Como não havia nada mais a ser tratado, a Doutora **Lupe Furtado Alle**, após informar à candidata que ela tem, a partir desta data, até trinta dias para a entrega da versão definitiva de sua Tese e comprovante de submissão de pelo menos um artigo científico para um periódico de circulação internacional com cópia do(s) artigo(s), deu por encerrada a sessão. Eu, **Ricardo Lehtonen Rodrigues de Souza**, lavrei a presente ata, a qual assino juntamente com os senhores examinadores. Curitiba, nove de maio de dois mil e quatorze.

À minha mãe Neu e meu pai Thel.
Muito obrigada por todo amor e dedicação.
Divido com vocês esta jornada!
Obrigada por tudo!
Amo vocês.

AGRADECIMENTOS

Adalberto Lopes, por toda colaboração e apoio.

Adriano Akira Hino, por toda paciência e atenção. Divido com você esta jornada, pois você ajudou a construir.

Amigas Carol, Diane, Eliane, Karina, Madelon, Maria Cristina, Melissa e Olga pela alegria nesta trajetória.

Amy Eyler, I have learned a lot from you.

CAPES e ao povo brasileiro pela oportunidade recebida.

Equipe GeneAL, às alunas e aos alunos da Nutrição, Educação Física, Enfermagem e Biologia que colaboraram para a realização deste projeto.

Friends from everywhere, Aaron Hipp, Amy & Scott Eyler, Andréa Dâmaso & Pedro Hallal, Cheryl Carnoske, Deborah Salvo, Elisabete Morandi & Alex Florindo, Juciane, Maria Luiza & José Cazuza de Farias Júnior, Elizabeth Budd and Samanta Madruga for the support.

James Sallis, you made a difference in my journey.

GPAQ, por todo carinho e apoio!

Lupe Furtado Alle, pela tranquilidade nas horas que precisei, obrigada por estar ao meu lado. Obrigada por tudo.

Lygia Galli Terasawa & Angela Ikeda & Josiele Polzin, o gatilho para esta jornada.

Marilene Portes & Marilene Lopes & Simone de Christan, vocês são parte da minha história.

Murilo Scroccaro, por todas as vezes que precisei.

Priscila Gonçalves, você me inspira com sua retidão, seriedade, comprometimento e profissionalismo.

Participantes do estudo, pela contribuição ao projeto e por nos estimular a querer fazer mais e melhor para as pessoas.

PUCPR, por todo suporte ao projeto e contribuição para minha formação.

Ross Brownson, I have no words to say what you mean to me. Thank you so much for being in my life.

UFPR, pelo apoio ao projeto e, por mais uma vez, pela minha formação.

À todas as pessoas que me fazem acreditar neste mundo e lembrar que uma pessoa pode fazer a diferença.

Ao meu marido Rodrigo, por estar verdadeiramente comigo todos os dias.

"Dentro da noite que me rodeia
Negra como um poço de lado a lado
Eu agradeço aos deuses que existem
Por minha alma indomável

Nas garras cruéis das circunstâncias
Eu não tremo ou me desespero
Sob os duros golpes da sorte
Minha cabeça sangra, mas não se curva

Além deste lugar de raiva e choro,
Paira somente o horror da sombra
E ainda assim a ameaça do tempo,
E deve me achar, destemido.

Não importa se o portão é estreito
Não importa o tamanho do castigo,
Eu sou o senhor de meu destino
Eu sou o capitão de minha alma".

William Ernest Henley

RESUMO

Ainda que as formas de tratamento da obesidade estejam estabelecidas, existe uma variação interindividual na resposta aos tratamentos, assim, genes relacionados à obesidade, os chamados genes candidatos à obesidade e seus polimorfismos, tem sido investigados visando esta compreensão. O objetivo deste estudo foi investigar a resposta à restrição calórica por meio de uma intervenção dietética em mulheres portadoras e não-portadoras de polimorfismos dos genes *ADRB2*, *ADRB3* e *GHRL* sobre parâmetros antropométricos e bioquímicos. Foi realizada restrição calórica por meio de uma intervenção dietética para perda de peso, com desenho *quasi*-experimental em adultas obesas (n=120). Foram coletados dados de peso e estatura, para cálculo de índice de massa corpórea (IMC), de circunferência da cintura, colesterol total, colesterol da LDL, colesterol da HDL e triglicérides. Foram analisados os polimorfismos Arg16Gly e Gln27Glu do gene *ADRB2*; Trp64Arg do gene *ADRB3* e Leu72Met do gene *GHRL* por genotipagem TaqMan®. Para testar o efeito dos polimorfismos sobre as variáveis de estudo, foi utilizado o análise de variância ANOVA 2 x 2 para medidas repetidas para o IMC, e regressão logística *stepwise forward conditional* para as demais variáveis. Para avaliar a diferença entre antes e após a intervenção dietética foi utilizado o teste de Wilcoxon. Para comparação das médias da circunferência da cintura e do perfil lipídico entre os grupos na pré e na pós-intervenção foi utilizado o teste U de Mann-Whitney. Valores <0,05 foram considerados significantes. Na análise longitudinal, verificando o efeito dos polimorfismos, não foi identificada resposta diferente à restrição calórica para as portadoras e não-portadoras dos polimorfismos Arg16Gly e Gln27Glu do gene *ADRB2*; Trp64Arg do gene *ADRB3* e Leu72Met do gene *GHRL* sobre o IMC, circunferência da cintura, colesterol, HDL-C, LDL-C, e triglicérides plasmáticos. A intervenção dietética reduziu o IMC ($p < 0.001$), a circunferência da cintura ($p < 0,001$), o colesterol ($p = 0,003$) e o HDL-C ($p < 0,001$), entretanto, uma média maior de redução para o colesterol foi encontrada para as portadoras do polimorfismo Arg16Gly ($p = 0.015$) e Gln27Glu ($p = 0.046$) e para as não-portadoras do Leu72Met ($p = 0.002$). Analisando a variabilidade interindividual (ANOVA), a comparação das médias entre portadoras e não-portadoras, apontou que as portadoras do polimorfismo Gln27Glu apresentaram média do IMC menor ($p = 0.006$). Na análise transversal, a média dos triglicérides para as portadoras do polimorfismo Arg16Gly foi maior tanto na pré ($p = 0,014$) quanto na pós-intervenção ($p = 0,018$). Concluindo, não foi identificado efeito dos polimorfismos Arg16Gly e Gln27Glu do gene *ADRB2*, Trp64Arg do gene *ADRB3* e Leu72Met do gene *GHRL* sobre IMC, circunferência da cintura, colesterol, HDL-C, LDL-C e triglicérides. Entretanto, os dados encontrados sugerem que os polimorfismos Arg16Gly, Gln27Glu e Leu72Met tem algum efeito sobre o metabolismo lipídico e o controle de peso. A intervenção dietética reduziu o IMC, a circunferência da cintura, o colesterol e o HDL-C.

Palavras-chave: Obesidade. Redução de peso. Polimorfismos. *ADRB2*. *ADRB3*. *GHRL*. Nutrigenética.

ABSTRACT

Although the obesity treatment is well established, there is an interindividual variation to the response, thus, genes and polymorphisms related to obesity have been studied. The aim of this study was to assess the answer to a caloric restriction in women carriers and non-carriers of the *ADRB2*, *ADRB3* and *GHRL* gene polymorphisms over biochemical and anthropometrical parameters. This study was a caloric restriction through a dietary intervention for weight loss with 120 obese adult women. The study design was a quasi-experimental intervention. Height was measured at pre-intervention, and waist circumference and weight at pre-intervention and post-intervention. The body mass index (BMI) was calculated. Blood samples were collected from participants to analyze cholesterol, triacylglycerol, HDL-C, LDL-C and for DNA analyses. Genotyping of *ADRB2* (Arg16Gly and Gln27Glu), *ADRB3* (Trp64Arg) and *GHRL* (Leu72Met) polymorphisms were achieved using a TaqMan® SNP Genotyping Assay. Two-way repeated-measures ANOVA (2 x 2) were used to analyze the intervention effect between polymorphisms and the BMI over the period - two groups (carrier and non-carrier subjects) for each polymorphism (Arg16Gly, Gln27Glu, Trp64Arg and Leu72Met) and two periods (pre-intervention and post-intervention) - analyzing the effect of period, group, and the interaction between period and group. To assess the polymorphisms effect over waist circumference and lipid profile variables it was used *stepwise forward conditional*. The difference of the parameters between pre and post intervention was assessed by Wilcoxon test, and the difference between groups for waist circumference and lipid profiles, was assessed by Mann-Whitney U test. For all statistical analyses $p < 0.05$ was considered significant. There was no difference between any polymorphisms carriers and non-carriers for any parameter. The weight loss intervention reduced the BMI ($p < 0.001$), waist circumference ($p < 0.001$), cholesterol ($p = 0.003$) and HDL-C ($p < 0.001$). However, the medium difference for cholesterol pre and post intervention for the Arg16Gly, Gln27Glu carriers and Leu72Met non-carriers was greater. Comparing the differences between groups (cross-sectional assessment), the Arg16Gly carriers have shown a greater mean for triacylglycerol. Although in this study the polymorphism Arg16Gly, Gln27Glu, Trp64Arg and Leu72Met carriers and non-carriers did not respond differently to the weight loss diet intervention, the results suggest that Arg16Gly, Gln27Glu and Leu72Met polymorphisms may have a role related to lipid metabolism and weight control.

Key-words: Obesity. Weight loss. *ADRB2*. *ADRB3*. *GHRL*. Polymorphism. Nutrigenetics.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Frequências genotípicas e alélicas de participantes de estudos relativas aos polimorfismos Arg16Gly e Gln27Glu do gene <i>ADRB2</i> ; Trp64Arg do gene <i>ADRB3</i> e Leu72Met do gene <i>GHRL</i>25
Table 1	Characteristics of obese women participants in a weight loss intervention study with polymorphisms of the <i>ADRB2</i> , <i>ADRB3</i> and <i>GHRL</i> genes, done in 2011 in Curitiba, Brazil (n =109).49
Tabela 1	Participação das adultas obesas na triagem, no início e na conclusão do estudo com os polimorfismos Arg16Gly e Gln27Glu do gene <i>ADRB2</i> ; Trp64Arg do gene <i>ADRB3</i> e Leu72Met do gene <i>GHRL</i> e intervenção dietética para redução de peso em em Curitiba - Brasil, 2011.57
Tabela 2	Características das adultas obesas que concluíram o estudo com os polimorfismos Arg16Gly e Gln27Glu do gene <i>ADRB2</i> ; Trp64Arg do gene <i>ADRB3</i> e Leu72Met do gene <i>GHRL</i> e intervenção dietética para redução de peso em em Curitiba - Brasil, 2011.57
Tabela 3	Frequência alélica dos polimorfismos Arg16Gly e Gln27Glu do gene <i>ADRB2</i> ; Trp64Arg do gene <i>ADRB3</i> e Leu72Met do gene <i>GHRL</i> das adultas obesas participantes do estudo de intervenção dietética para a perda de peso em Curitiba, Brasil, 2011.58
Tabela 4	Frequência das portadoras e não-portadoras dos polimorfismos Arg16Gly (n=120) e Gln27Glu (n=117) do gene <i>ADRB2</i> ; Trp64Arg (n=111) do gene <i>ADRB3</i> e Leu72Met (n=114) do gene <i>GHRL</i> das adultas obesas participantes do estudo para redução de peso em Curitiba - Brasil, 2011.59
Tabela 5	Dados de adiposidade abdominal (n=109) e do perfil lipídico (n=113) das mulheres obesas participantes do estudo para redução de peso em Curitiba - Brasil, 2011.59
Tabela 6	Circunferência da cintura e dados bioquímicos de não-portadoras e portadoras dos polimorfismos Arg16Gly e Gln27Glu do gene <i>ADRB2</i> ; Trp64Arg do gene <i>ADRB3</i> e Leu72Met do gene <i>GHRL</i> de mulheres adultas obesas antes e após a intervenção dietética para a perda de peso Curitiba, Brasil, 2011.61
Tabela 1	Frequência alélica dos polimorfismos Arg16Gly e Gln27Glu do gene <i>ADRB2</i> ; Trp64Arg do gene <i>ADRB3</i> e Leu72Met do gene <i>GHRL</i> das adultas obesas participantes do estudo de intervenção dietética para a perda de peso Curitiba, Brasil, 2011.133
Table 1	Anthropometrical and biochemical data of non-carriers and carriers of the polymorphisms Arg16Gly and Gln27Glu of gene <i>ADRB2</i> ; Trp64Arg of gene <i>ADRB3</i> and Leu72Met of gene <i>GHRL</i> from obese adult women pre and post dietary intervention for weight loss in Curitiba, Brazil, 2011.134

LISTA DE SIGLAS

ADRB2	Receptor adrenérgico beta-2
ADRB3	Receptor adrenérgico beta-3
<i>ADRB2</i>	Gene do receptor adrenérgico beta-2
<i>ADRB3</i>	Gene do receptor adrenérgico beta-3
<i>GHRL</i>	Gene da grelina
IMC	Índice de massa corporal
HDL	Lipoproteína de densidade alta
LDL	Lipoproteína de densidade baixa
HDL-C	Colesterol da HDL
LDL-C	Colesterol da LDL

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	17
2.1	OBJETIVO GERAL.....	17
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3	JUSTIFICATIVA.....	18
4	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	20
4.1	OBESIDADE.....	20
4.1.1	Epidemiologia da obesidade.....	20
4.1.2	Consequências da obesidade	21
4.1.3	Causas da obesidade	22
4.1.3.1	Nutrição e obesidade.....	22
4.1.3.2	Genética e obesidade.....	22
4.1.3.2.1	Genética e ambiente.....	23
4.1.3.2.2	Ambiente e nutrição.....	23
4.2	POLIMORFISMOS SELECIONADOS	24
4.2.1	Receptores beta-adrenérgicos	24
4.2.1.1	Receptor adrenérgico beta-2	25
4.2.1.2	Receptor adrenérgico beta-3	27

4.2.2	Grelina	29
4.3	RECOMENDAÇÕES PARA O CONTROLE DE PESO.....	31
4.3.1	Recomendações nutricionais.....	31
4.3.1.1	Fatores dietéticos	31
4.3.1.2	Fatores comportamentais.....	32
4.3.2	Atividade física.....	33
5	RESULTADOS	34
5.1	CAPÍTULO 1.....	34
5.2	CAPÍTULO 2.....	53
6	DISCUSSÃO	75
6.1	EFEITO DA INTERVENÇÃO DIETÉTICA PARA PERDA DE PESO.....	75
6.2	EFEITO DOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS ESTUDADOS	75
7	CONCLUSÃO.....	80
	REFERÊNCIAS.....	82
	GLOSSÁRIO.....	100
	APÊNDICES	101
	APÊNDICE 1.....	101
	APÊNDICE 2.....	118
	APÊNDICE 3.....	122
	APÊNDICE 4.....	123
	APÊNDICE 5.....	124

APÊNDICE 6.....	126
APÊNDICE 7.....	129
APÊNDICE 8.....	133
APÊNDICE 9.....	136
FREQUÊNCIA ALÉLICA DAS PARTICIPANTES DO ESTUDO.....	137
NÍVEL SOCIOECONÔMICO DAS PARTICIPANTES DO ESTUDO.....	138
DADOS ANTROPOMÉTRICOS E BIOQUÍMICOS DAS PARTICIPANTES DO ESTUDO E POLIMORFISMOS DOS GENES <i>ADRB2</i> , <i>ADBR3</i> E <i>GHRL</i> ANTES E APÓS A INTERVENÇÃO.	139

1 INTRODUÇÃO

A obesidade é uma condição caracterizada pelo acúmulo excessivo de tecido adiposo (Seagle *et al.*, 2009; Flegal *et al.*, 2010). Está relacionada com o desenvolvimento de comorbidades, como doenças cardíacas, diabetes tipo 2 e hipertensão (Kumanyika *et al.*, 2008), as quais podem incapacitar os indivíduos ou levá-los à morte (Kumanyika *et al.*, 2002). Apesar das consequências e da gravidade associadas a esta condição, a epidemia da obesidade é generalizada, caracterizando uma pandemia (Schmidt *et al.*, 2011).

No contexto nacional e internacional a prevalência de obesidade tem aumentado ao longo das últimas décadas (Ogden *et al.*, 2007; IBGE, 2010). No Brasil, a obesidade afeta todos os grupos de renda, todas as idades e regiões, porém é mais prevalente em adultos e nas mulheres (IBGE, 2010). Este quadro tem despertado a atenção de governos e profissionais para os aspectos que contribuem para este crescimento.

A obesidade é uma doença crônica complexa e multifatorial e o seu desenvolvimento pode ser atribuído à integração de fatores sociais, comportamentais, culturais, fisiológicos, metabólicos e genéticos (Health., 1998). Apesar desta complexidade, o desequilíbrio entre ingestão e utilização de calorias pelo organismo humano é considerada uma condição fundamental para o desenvolvimento da obesidade (Health., 1998; IBGE, 2010). Diferentes tratamentos estão disponíveis para a obesidade, mas os indivíduos respondem de modo diverso a estas intervenções (Bray, 2008), o que torna necessário aprofundar as investigações sobre os mecanismos inerentes a este desenvolvimento.

Entre os mecanismos investigados, aqueles que envolvem fatores genéticos tem sido considerados importantes tanto para a compreensão da obesidade quanto do controle de peso. Em parte esta importância reside na grande variabilidade individual, a qual está relacionada ao fato de que portadores de alguns genótipos, ainda que com estímulos semelhantes, tenham mais facilidade em perder peso que outros (Deram and Villares, 2009). Da mesma maneira, algumas variantes

genéticas, podem também explicar, em parte, a variabilidade de resposta às tentativas de controle de peso.

Neste contexto, o papel dos genes pode ser importante por sua participação simultânea nos mecanismos lipídicos e de gasto energético. Por exemplo, os receptores beta-adrenérgicos, codificados pelos genes *ADRB2* e *ADRB3*, integram o sistema adrenérgico, o qual desempenha uma função-chave na regulação do balanço energético através da termogênese e do metabolismo lipídico (Deram and Villares, 2009). Ainda, a grelina, codificada pelo gene *GHRL* é um peptídeo ligante endógeno para o receptor secretagogo do hormônio de crescimento (Peeters, 2003; Correa-Silva *et al.*, 2008), e tem a sua ação de maior destaque na regulação do peso corporal, a qual também tem efeito direto sobre a ingestão alimentar e decréscimo do gasto energético (Nogueiras *et al.*, 2008). A compreensão acerca da interação dos genes sobre o controle de peso colabora para as possibilidades de tratamento e prevenção da obesidade, e consequentemente, para a redução dos riscos associados à esta condição.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Investigar a resposta à restrição calórica em mulheres adultas obesas portadoras dos polimorfismos Arg16Gly (rs1042713) e Gln27Glu (rs1042714) do gene *ADRB2*; Trp64Arg (rs4994) do gene *ADRB3* e Leu72Met (rs696217) do gene *GHRL* sobre parâmetros antropométricos (IMC e circunferência da cintura) e bioquímicos (colesterol total, colesterol da LDL, colesterol da HDL e triglicérides).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito dos polimorfismos Arg16Gly (rs1042713) e Gln27Glu (rs1042714) do gene *ADRB2*; Trp64Arg (rs4994) do gene *ADRB3* e Leu72Met (rs696217) do gene *GHRL* sobre a resposta de variáveis antropométricas (IMC e circunferência da cintura) e bioquímicas (colesterol total, colesterol da LDL, colesterol da HDL e triglicérides) em mulheres adultas obesas portadoras destes polimorfismos, independente da restrição calórica.
- Investigar a resposta de uma intervenção dietética redução de peso em mulheres adultas obesas sobre variáveis antropométricas (IMC e circunferência da cintura) e bioquímicas (colesterol total, colesterol da LDL, colesterol da HDL e triglicérides).

3 JUSTIFICATIVA

Diante das funções relacionadas, e considerando a variabilidade individual, o objetivo deste estudo foi investigar a resposta à uma restrição calórica por meio de uma intervenção dietética para redução de peso em adultas obesas portadoras e não portadoras de polimorfismos dos genes *ADRB2*, *ADRB3* e *GHRL* sobre parâmetros antropométricos e bioquímicos.

Neste contexto, diversos estudos tem sido conduzidos para investigar a contribuição dos fatores genéticos para a obesidade (Clement *et al.*, 1996; Gagnon *et al.*, 1996; Clement *et al.*, 1997; Large *et al.*, 1997; Tchernof *et al.*, 2000; Dionne *et al.*, 2001; Matsushita *et al.*, 2003; Shiwaku *et al.*, 2003; Perez-Martinez *et al.*, 2008; Furtado-Alle *et al.*, 2008; Deram *et al.*, 2008; Gjesing *et al.*, 2009; Goossens *et al.*, 2009; Warodomwicht *et al.*, 2009; Corpeleijn *et al.*, 2010; Rosado *et al.*, 2010; Sone *et al.*, 2010; Cohen *et al.*, 2011; Siitonen *et al.*, 2011). Todavia, a identificação da relação de genes específicos com ação nos mecanismos lipídicos e de gasto energético ainda é limitada.

Ainda deve ser considerado que os fatores ambientais interagem com os genes e suas mutações na determinação do risco da obesidade (Rankinen *et al.*, 2006). Neste contexto, um estímulo ambiental é qualquer comportamento ou fator de estilo de vida que tenha uma influência sobre a ingestão energética ou gasto energético (Bouchard, 2008). Além disso, alguns aspectos tem dificultado a compreensão dos fatores ambientais para a obesidade.

Primeiro, os modelos de investigação devem incluir populações humanas, pois ainda que recursos técnicos estejam disponíveis, não é possível representar em sistemas, com precisão, como os polimorfismos respondem à exposição dietética (Williams *et al.*, 2008). Além disso, a confirmação dos mecanismos relacionados às interações genótipo-nutrientes em estudos humanos é importante, porém inexplorada (Williams *et al.*, 2008).

Ainda, os delineamentos de estudo devem priorizar ensaios clínicos ao invés de estudos observacionais e medidas precisas das variáveis de interesse. Tais aspectos são fundamentais tanto para estimar com maior precisão a exposição às

intervenções quanto para quantificar a real magnitude de efeito das mesmas. Assim, o efeito de interação intervenção-gene e o controle para as variáveis de confusão, podem ser melhor estabelecidos (Bouchard and Agurs-Collins, 2008).

Portanto, aspectos de base científica reforçam a necessidade de investigações que compreendam a identificação da relação de genes específicos com o mecanismo lipídico e o gasto energético, com delineamentos controlados. De fato, estudos avaliando o efeito dos polimorfismos, controlados e com intervenção em nutrição são escassos no Brasil (Alcantara *et al.*, 2003; Mattevi *et al.*, 2006; Deram *et al.*, 2008; Rosado *et al.*, 2010). Estudos sobre este tema e com este delineamento poderão contribuir para a compreensão sobre o efeito específico de dietas no controle do peso. Implicações práticas incluem, entre outras, o desenvolvimento de dietas personalizadas conforme o genótipo que podem adiar ou mesmo reduzir o desenvolvimento da obesidade (Marti *et al.*, 2005). Especialmente para as mulheres, pois a obesidade, definida com IMC ≥ 30 kg/m², onde uma em cada três é afetada (Ryan and Braverman-Panza, 2014), está associada com acidente vascular cerebral e síndrome metabólica (Antillon and Towfighi, 2011), além de aumentar os riscos de complicações durante à gestação (Zera *et al.*, 2011).

Conforme normas do Programa de Pós-graduação em Genética da UFPR, após a introdução e revisão bibliográfica geral e abrangente e a apresentação dos objetivos, a tese é composta por capítulos em forma de artigos já publicados ou prontos para publicação resultantes da tese, uma discussão geral e conclusões gerais, além de um apêndice com descrição detalhada de materiais e métodos.

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 OBESIDADE

A obesidade é uma condição caracterizada pelo acúmulo excessivo de tecido adiposo (Seagle *et al.*, 2009). A quantidade e a distribuição deste excesso de gordura corporal, assim como as consequências à saúde, variam entre os indivíduos obesos (WHO, 2000).

O diagnóstico da obesidade pode ser feito através do índice de massa corpórea (IMC), o qual é um índice simples que classifica os indivíduos com excesso de peso, seja sobrepeso ou obesidade. É definido pelo peso em quilogramas dividido pela estatura ao quadrado (kg/m^2) (WHO, 2000). Assim, este excesso de peso pode ser classificado em diferentes faixas com os respectivos graus de risco de comorbidades, conforme tabela abaixo.

Quadro 1. Classificação de adulto conforme o IMC (WHO, 2000).

Classificação	IMC em kg/m^2	Risco de comorbidades
Normal	18,50 - 24,99	Médio
Excesso de peso	≥ 25	
Pré obeso	25 -29,99	Aumentado
Obeso classe I	30 -34,99	Moderado
Obeso classe II	35 -39,99	Severo
Obeso classe III	≥ 40	Muito severo

4.1.1 Epidemiologia da obesidade

A obesidade é um dos maiores desafios entre as epidemias atuais (Swinburn *et al.*, 2004). Nos Estados Unidos da América em 2007-2008 mais de um terço da população adulta estava obesa (Flegal *et al.*, 2010). Esta prevalência tem aumentado ao longo das últimas décadas, sendo que entre 1998 e 1994 e 2007 e 2008 a prevalência aumentou em todos os níveis econômicos e educacionais (Ogden *et al.*, 2007).

No Brasil a prevalência de excesso de peso também tem aumentado desde meados da década de 1970. Os dados recentes da Pesquisa de Orçamentos

Familiares (POF) (IBGE, 2010) caracterizam o perfil do excesso de peso e obesidade no Brasil. O excesso de peso é observado praticamente na metade da população adulta brasileira, e em relação à obesidade, a prevalência é de 12,5% em homens e 16,9% em mulheres.

Quanto às regiões, a obesidade e o excesso de peso, para homens, foram mais frequentes nas Regiões Sudeste, Sul e Centro-Oeste do que nas Regiões Norte e Nordeste, e em domicílios urbanos do que em domicílios rurais. Quanto às mulheres, não houve tanta diferença entre as regiões e domicílios, exceto à Região Sul, a qual apresentou maior prevalência, tanto de excesso de peso quanto de obesidade.

Quanto à renda, a alta prevalência da obesidade ocorre em todos os grupos de renda. Sendo que, em homens o excesso de peso e a obesidade aumentaram com o aumento da renda, e para as mulheres, o resultado foi curvilíneo, tendo as maiores prevalências nas classes intermediárias de renda.

Em relação à idade, homens e mulheres entre 20 e 29 anos, apresentaram menor prevalência de obesidade. Considerando as maiores prevalências de obesidade, em homens, estas foram encontradas nas seguintes faixas etárias: de 45 a 54 anos (16,8%), de 55 a 64 anos (15,9%) e na de 35 a 44 anos (13,6%), e para as mulheres, nas seguintes faixas etárias: de 55 a 64 anos (26,0%), de 65 a 74 anos (22,4%), e na de 45 a 54 anos (21,5%).

4.1.2 Consequências da obesidade

Diversas doenças ou condições estão relacionadas à obesidade. Entre estas, doença cardíaca coronária, diabetes tipo 2, hipertensão, dislipidemia, doenças pulmonares, insuficiência cardíaca, acidente vascular cerebral, gota, complicações de fertilidade e gestação, cálculo renal, asma, Alzheimer, absenteísmo ao trabalho entre outras (Kumanyika *et al.*, 2008).

Problemas de ordem psicossocial também afetam indivíduos obesos ou com sobrepeso. Depressão, baixa autoestima, discriminação no trabalho ou outras formas de estigmatização (Kumanyika *et al.*, 2002).

4.1.3 Causas da obesidade

A obesidade é uma desordem crônica heterogênea que tem muitas causas, ainda que a base fundamental seja o desequilíbrio entre a ingestão e o gasto energético (Health., 1998). Neste processo, a nutrição e fatores genéticos tem uma contribuição importante.

4.1.3.1 Nutrição e obesidade

Vários fatores afetam um indivíduo na determinação de seu consumo alimentar (Story *et al.*, 2008). Sistemas internos individuais associados à fatores externos refletem no acesso, seleção e consumo de alimentos pelas pessoas. Fatores de ordem fisiológica, podem interferir na nutrição do indivíduo, ou seja, no aproveitamento dos nutrientes após a ingestão.

Considerando os fatores individuais, dois sistemas internos diferentes governam a ingestão alimentar: o sistema homeostático e o sistema hedônico (Seagle *et al.*, 2009). Ambos tem implicação direta no consumo energético e de macronutrientes. Outros fatores individuais, porém de ordem comportamental, também se relacionam com a ingestão alimentar (Story *et al.*, 2008).

A alimentação que influencia o ganho de peso, muitas vezes está relacionada com a redução na ingestão de carboidratos complexos e de fibras, a qual em geral é substituída por uma dieta com uma proporção maior de gorduras, gorduras saturadas e açúcares (Kumanyika *et al.*, 2002).

4.1.3.2 Genética e obesidade

Os fatores genéticos são um dos determinantes da obesidade, porém, a obesidade é uma doença poligênica (Simopoulos, 2010), assim, não se pode relacioná-la somente à um gene (Johnson *et al.*, 2006). As doenças poligênicas são

causadas pela combinação de vários genes e suas variações (Afman and Muller, 2006).

Foram realizados diversos estudos com obesidade e genes nos últimos anos (Loos, 2012). Entre estes, vários identificaram a associação positiva entre a obesidade e variações na sequência de DNA em genes específicos (Villalobos-Comparan *et al.*, 2008; Goossens *et al.*, 2009; Tsuzaki *et al.*, 2009). Além disso, para alguns genes a associação encontrada com obesidade foi confirmada em pelo menos cinco estudos (Rankinen *et al.*, 2006).

Muitas das variantes genéticas, tais como polimorfismos de base única, (SNPs de *single nucleotide polymorphisms*), foram encontradas pelo sequenciamento de genes que codificam enzimas ou transportadores relacionados com a doença de interesse (Afman and Muller, 2006). Desta forma, foi possível identificar os polimorfismos relacionados à obesidade.

4.1.3.2.1 Genética e ambiente

A maior parte das doenças crônicas é causada por fatores genéticos e ambientais múltiplos (Afman and Muller, 2006), ou seja, os genes predispõem, mas não são suficientes para determinar a doença (DeBusk, 2009).

Sendo a interação gene-ambiente determinante para o desfecho observado, ou seja para o fenótipo, é importante entender este conceito. Por definição, o efeito da interação genótipo-ambiente está presente quando a resposta ou adaptação a um fator ambiental, a um comportamento, ou mudança no comportamento está condicionada ao genótipo do indivíduo (Bouchard, 2008).

4.1.3.2.2 Ambiente e nutrição

A pesquisa em nutrição e genética até o presente momento, apontou os genes e seus polimorfismos que podem afetar a propensão à desenvolver à obesidade (Elliott and Johnson, 2007). Indivíduos com polimorfismos tem uma

predisposição maior ou menor para o ganho de peso, sendo que, a habilidade para perder peso induzida por uma dieta hipocalórica parece ser influenciada pelo genótipo (Marti *et al.*, 2004).

Porém, em doenças relacionadas à dieta, ocorre uma interação dinâmica entre variações genéticas específicas e fatores ambientais, os quais incluem nutrientes e outros compostos bioativos dos alimentos (DeBusk, 2009). No caso da obesidade, a nutrição é provavelmente o fator ambiental mais importante que modula a ação dos genes e do fenótipo (Ordovas, 2008). Assim, o ambiente nutricional é essencial para o desenvolvimento da obesidade.

4.2 POLIMORFISMOS SELECIONADOS

O estudo com polimorfismos relacionados à obesidade é importante para aprofundar o conhecimento desta relação e colaborar para a construção do conhecimentos necessários para usar os polimorfismos como marcadores genéticos do risco de desenvolver a obesidade e na variabilidade de respostas à intervenções para perda de peso e consequentemente possibilitar as recomendações adequadas para promover a saúde (Rankinen *et al.*, 2006; Loos, 2012). Assim, a escolha dos polimorfismos foi baseada no impacto funcional relacionado à obesidade e funções metabólicas.

4.2.1 Receptores beta-adrenérgicos

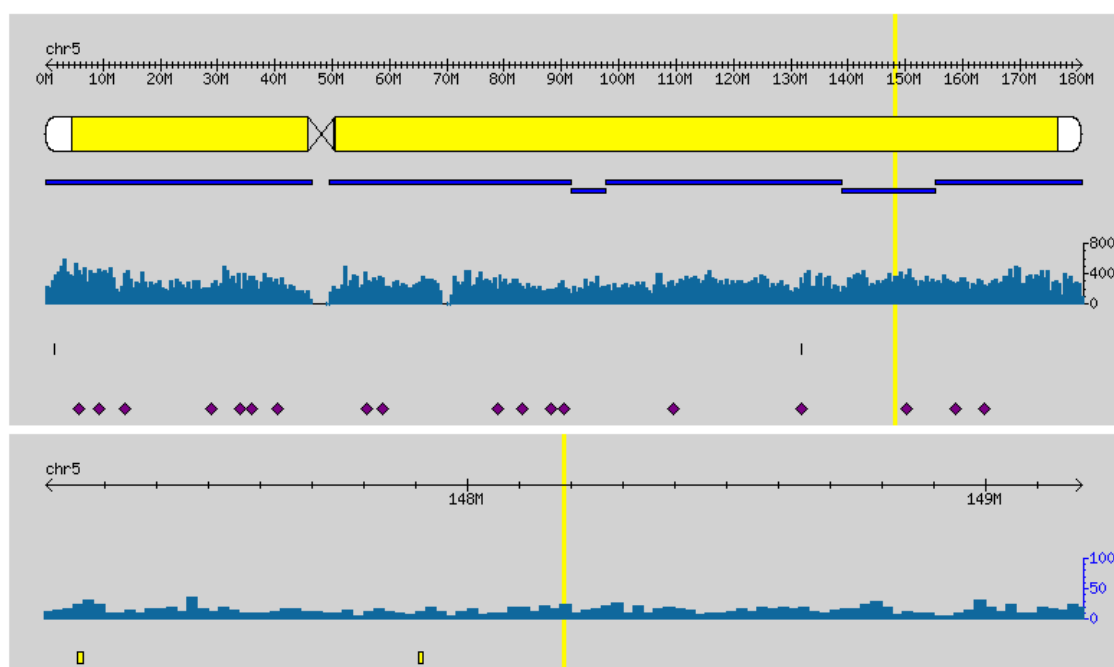
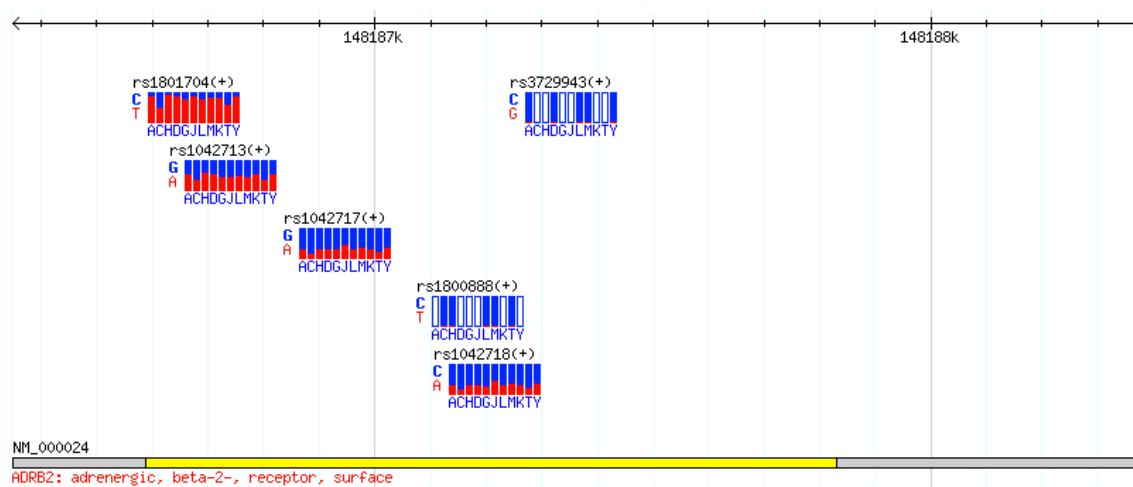
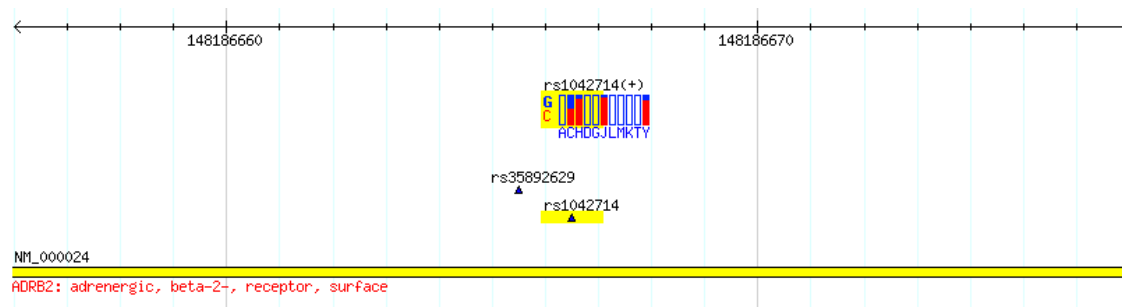
Os receptores do sistema adrenérgico tem papel importante na estimulação da termogênese e na ativação da mobilização dos estoques de gorduras (Arner and Hoffstedt, 1999; Takenaka *et al.*, 2012) e atuam por meio da ação da adrenalina e da noradrenalina (Insel, 1996). Entre vários receptores deste sistema, estão os receptores beta-adrenérgicos β_2 e β_3 (ADRB2 e ADRB3, respectivamente). Em função disto, os genes que codificam estes receptores, genes *ADRB2* e *ADRB3*, são

vistos como genes candidatos à obesidade (Arner and Hoffstedt, 1999) e polimorfismos nestes genes podem causar diferenças no gasto energético (Takenaka *et al.*, 2012). Apesar de estudos realizados com obesidade e estes genes, os resultados ainda são controversos (Rankinen *et al.*, 2006).

4.2.1.1 Receptor adrenérgico beta-2

Os receptores adrenérgicos beta-2 são codificados pelo gene *ADRB2* (FIGURA 1), o qual está localizado no cromossomo 5 (5q31-q32). Com um tamanho de 48,473 bp e com a seguinte coordenada genômica 5:148,206,155-148,254,627. Entre os polimorfismos deste gene estão os Arg16Gly (rs1042713) e Gln27Glu (rs1042714).

O polimorfismo Arg16Gly (rs1042713) ocorre pela alteração do nucleotídeo adenina para guanina [A/G] e o polimorfismo Gln27Glu (rs1042714), do nucleotídeo citosina para guanina [C/G]. Ambos podem ser visualizados nas FIGURAS 2 e 3, respectivamente e abaixo.

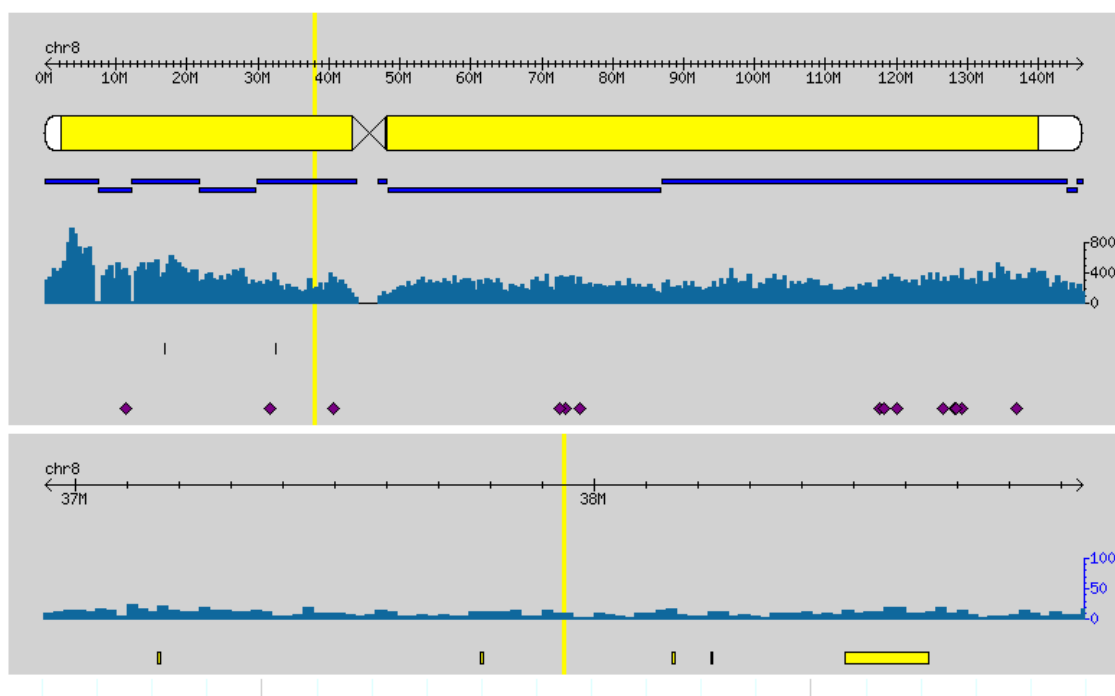
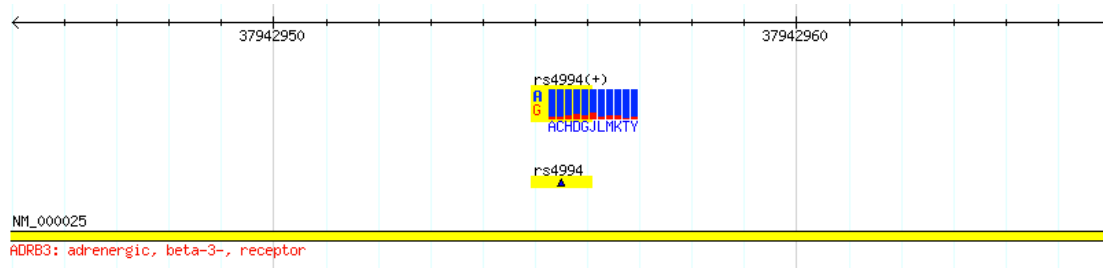
FIGURA 1. Gene *ADRB2*.FONTE: <http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/index.html.en>FIGURA 2. Polimorfismo Arg16Gly (rs1042713) do gene *ADRB2*.FONTE: <http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/index.html.en>FIGURA 3. Polimorfismo Gln27Glu (rs1042714) do gene *ADRB2*.FONTE: <http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/index.html.en>

Os polimorfismos Arg16Gly e Gln27Glu do gene *ADRB2* tem sido investigados em diferentes estudos relacionados à obesidade. Alguns estudos encontraram associação destes polimorfismos com o ganho de peso e com o perfil lipídico para o polimorfismo Arg16Gly (Daghestani *et al.*, 2012) ou com a obesidade, para o polimorfismo Gln27Glu (Takenaka *et al.*, 2012). Em outro estudo, foi identificado que mulheres portadoras do polimorfismo Gln27Glu apresentaram maior redução no peso corporal do que as não-portadoras após intervenção para perda de peso (Ruiz *et al.*, 2011). Entretanto, em outro estudo não foi encontrada associação dos polimorfismos Arg16Gly e Gln27Glu com a obesidade (Jalba *et al.*, 2008).

4.2.1.2 Receptor adrenérgico beta-3

Os receptores adrenérgicos beta-3 são codificados pelo gene *ADRB3* (FIGURA 4), o qual está localizado no cromossomo 8 (8p11.23). Com um tamanho de 3,672 bp e com a seguinte coordenada genômica 8:37,820,512-37,824,183.

O polimorfismo Trp64Arg (rs4994) é gerado pela alteração do nucleotídeo citosina para guanina [C/T], conforme FIGURA 5 abaixo.

FIGURA 4. Gene *ADRB3*.FONTE: <http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/index.html.en>FIGURA 5. Polimorfismo Trp64Arg (rs4994) do gene *ADRB3*.FONTE: <http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/index.html.en>

O polimorfismo Trp64Arg do gene *ADRB3* tem sido relacionado à obesidade. Os portadores deste polimorfismo apresentaram IMC e circunferência da cintura maiores em relação aos não-portadores, mas não foi identificada diferença para os parâmetros bioquímicos (de Luis *et al.*, 2008). Entretanto, em outro estudo, as portadoras deste polimorfismo não apresentaram mudanças significantes no IMC e na circunferência da cintura (Shiwaku *et al.*, 2003), e em uma meta-análise realizada, foi identificada associação entre o IMC e este polimorfismo somente para asiáticos, e não para a população europeia (Kurokawa *et al.*, 2008).

4.2.2 Grelina

O gene *GHRL* (FIGURA 6) está localizado no cromossomo 3 (3p25.3) com a coordenada genômica chr3:10,327,433-10,334,630 e um tamanho de 7,198 bp. A grelina, codificada por este gene, é o peptídeo orexígeno mais potente, o qual regula o balanço energético (Kojima and Kangawa, 2005) (Nogueiras *et al.*, 2008).

O polimorfismo Leu72Met (rs696217) ocorre pela alteração no nucleotídeo guanina para timina [G/T], conforme apresentado na FIGURA 7 abaixo.

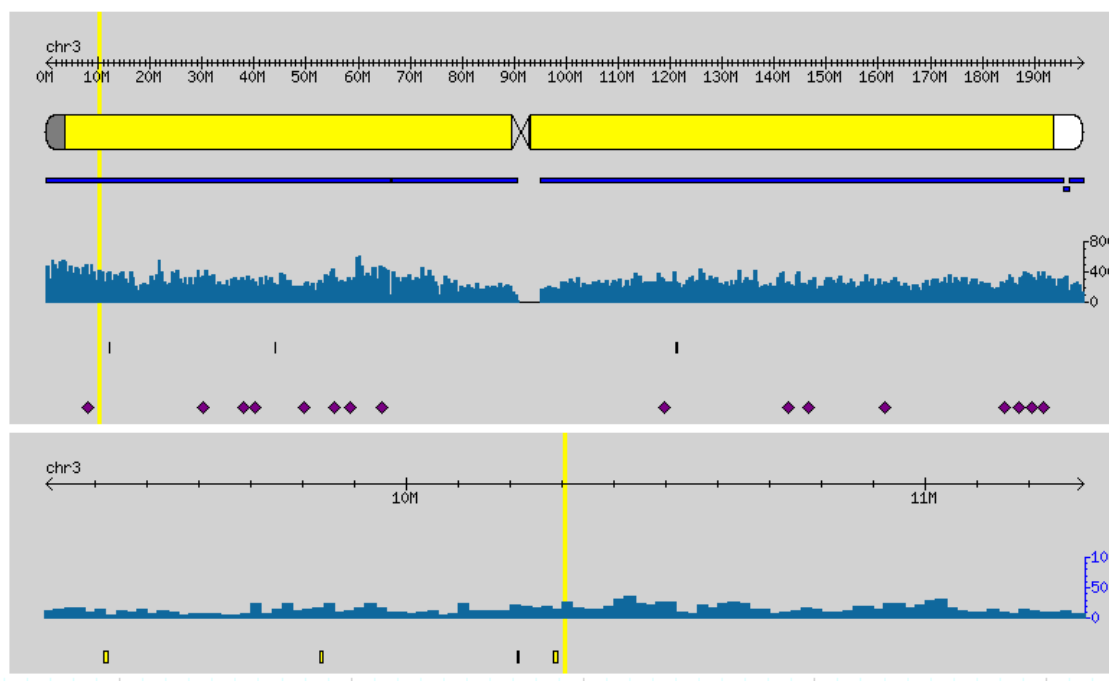


FIGURA 6. Polimorfismo Leu72Met (rs696217) do gene *GHRL*.

FONTE: <http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/index.html.en>

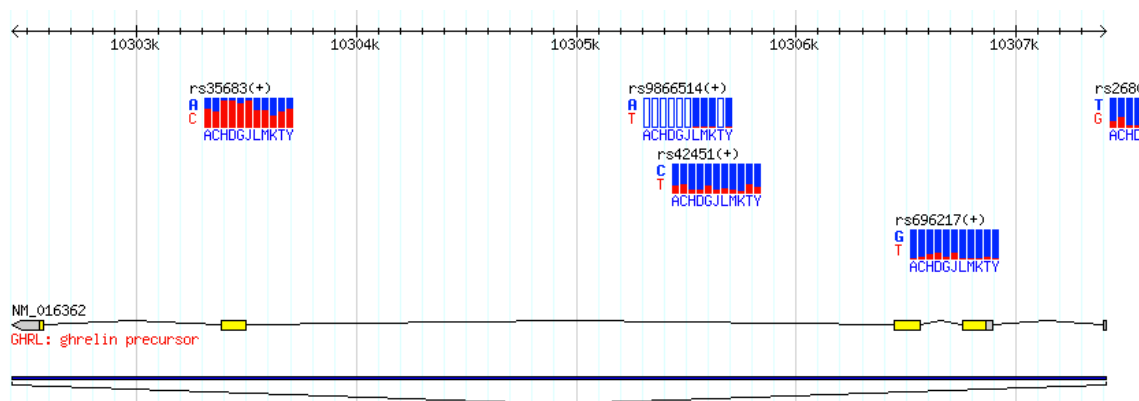


FIGURA 7. Gene *GHRL*.

FONTE: <http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/index.html.en>

Entre os estudos realizados com o polimorfismo Leu72Met do gene GHRL (605353) e obesidade, foi encontrado que o genótipo Met72Met estava associado com IMC mais baixo (Ukkola *et al.*, 2002). Entretanto, em outro estudo, não foi identificada diferença significativa entre portadores e não-portadores deste polimorfismo para as variáveis antropométricas e bioquímicas (Ando *et al.*, 2007).

A frequência genotípica dos genes *ADRB2*, *ADRB3* e *GHRL*, assim como a frequência alélica dos polimorfismos estudados, de participantes de diferentes estudos se encontram na TABELA 1 abaixo.

TABELA 1 - FREQUÊNCIAS GENOTÍPICAS E ALÉLICAS DE PARTICIPANTES DE ESTUDOS RELATIVAS AOS POLIMORFISMOS ARG16GLY E GLN27GLU DO GENE *ADRB2*; TRP64ARG DO GENE *ADRB3* E LEU72MET DO GENE *GHRL*.

GENE E POLIMORFISMO	FREQUÊNCIA DO GENÓTIPO N(%)			FREQUÊNCIA DO ALELO		ESTUDO
<i>ADRB2</i>						
Polimorfismo Arg16Gly	ArgArg	ArgGly	GlyGly	Arg	Gly	
	30(38,5)	38(48,7)	10(12,8)	0,628	0,372	(Ruiz <i>et al.</i> , 2011)
	76(50,1)	29(19,9)	41(28,1)	0,620	0,380	(Daghestani <i>et al.</i> , 2012)
	64(19,2)	164(49,1)	106(31,7)	0,440	0,560	(Mattevi <i>et al.</i> , 2006)
Polimorfismo Gln27Glu	GlnGln	GlnGlu	GluGlu	Gln	Glu	
	24(30,8)	41(52,5),	13(16,7)	0,570	0,430	(Ruiz <i>et al.</i> , 2011)
	62(41,9)	67(45,3)	19(12,8)	0,600	0,400	(Bea <i>et al.</i> , 2010)
	160(47,9)	137(41)	37(11,1)	0,680	0,320	(Mattevi <i>et al.</i> , 2006)
<i>ADRB3</i>						
Polimorfismo Trp64Arg	TrpTrp	TrpArg	ArgArg	Trp	Arg	
	126(85,1)	22(14,9)	0(0)	0,930	0,070	(Bea <i>et al.</i> , 2010)
	267(79,9)	60(18,0)	7(2,1)	0,890	0,110	(Mattevi <i>et al.</i> , 2006)
	385(86,3)	58(13,0)	3(0,7)	0,925	0,075	(Wang <i>et al.</i> , 2006)
<i>GHRL</i>						
Polimorfismo Leu72Met	LeuLeu	LeuMet	MetMet	Leu	Met	
	390(76,9)	103(20,3)	14(2,8)	0,871	0,129	(Mager <i>et al.</i> , 2006)
	197(67,7)	85(29,2)	9(3,1)	0,823	0,177	(Zhuang <i>et al.</i> , 2014)
	364(84,7)	65(15,1)	1(0,2)	0,922	0,077	(Berthold <i>et al.</i> , 2009)

4.3 RECOMENDAÇÕES PARA O CONTROLE DE PESO

As recomendações para o controle de peso incluem exercício, dieta, terapia comportamental, terapia medicamentosas e cirurgia (Mancini and Halpern, 2006). A dieta e o exercício se destacam, pois modificações na ingestão alimentar e no comportamento de atividade física, são os determinantes finais da obesidade (Kumanyika *et al.*, 2008).

4.3.1 Recomendações nutricionais

4.3.1.1 Fatores dietéticos

Dentro do contexto da obesidade, a composição da dieta deve ser considerada em um planejamento para o controle de peso. Os macronutrientes apresentam características que geram respostas fisiológicas diferentes quando consumidos, entre estas, na capacidade de armazenamento no corpo de cada macronutriente (WHO, 2000).

O lipídio é o macronutriente que mais favorece o ganho de peso, pois apresenta baixa saciação e saciedade, tem alta capacidade de armazenamento corporal e alta densidade energética (WHO, 2000). Estes atributos tornam o lipídio alvo para a redução da ingestão energética (Seagle *et al.*, 2009). Por outro lado, a proteína é vantajosa, pois promove a saciação e a saciedade, tem baixa densidade energética e baixa capacidade de armazenamento (WHO, 2000). Reduzir o carboidrato da dieta parece promover uma perda de peso maior (ALMEIDA, 2009). Ainda que existam estas diferenças, é a restrição energética que induz ao emagrecimento, independente da composição de macronutrientes (Sacks *et al.*, 2009).

Em relação ao balanço energético para o emagrecimento, a recomendação é que seja gerado um déficit de 500 a 1000 kcal/dia (Health., 1998; Seagle *et al.*, 2009), o que seria suficiente para a perda de 0,5 a 0,9 kg/semana (Jakicic *et al.*, 2001). Esta redução pode ser alcançada através da restrição de carboidratos, além

de lipídios (Seagle *et al.*, 2009). A restrição somente de lipídios, sem o déficit calórico, apresenta poucas evidências sobre o emagrecimento (Health., 1998).

Como exemplo da restrição de carboidratos, pode-se adotar a orientação proposta por Bray *et al.* (2004), em que as bebidas sejam na sua maioria, >60% ou até 100%, sem valor energético (Bray *et al.*, 2004). Os autores apontam que nos Estados Unidos, a atual alta ingestão de bebidas adoçadas calóricas contribui muito para o excesso de ingestão calórica e é um fator importante no desenvolvimento da obesidade. Bebidas de frutas e refrigerantes não são recomendados para o consumo frequente devido ao seu conteúdo energético, sendo um aditivo à ingestão energética total, além da baixa capacidade de saciedade (Dennis *et al.*, 2009).

Outra recomendação que auxilia nesta restrição calórica são os substitutos de refeição. Refeições líquidas ou refeições prontas com calorias controladas podem ser úteis para pessoas que tem dificuldade com as escolhas alimentares ou controle de porção. Eles podem substituir uma a duas refeições ou lanches por dia (Seagle *et al.*, 2009).

4.3.1.2 Fatores comportamentais

O comportamento do indivíduo em relação à sua alimentação afeta a ingestão de nutrientes, e conseqüentemente, a de calorias, impactando de uma forma positiva ou negativa sobre o balanço energético.

O número de refeições e o intervalo entre elas é essencial para manter a fome sob controle. O hábito de excluir refeições contribui para o aumento da fome, favorecendo o consumo alimentar além das necessidades na próxima refeição. Neste contexto, tomar café-da-manhã é um dos comportamentos alimentares que pode ser considerado para o controle de peso (Seagle *et al.*, 2009). Uma recomendação com um razoável suporte de evidências científicas, é distribuir a ingestão calórica total ao longo do dia, com o consumo de quatro a cinco refeições por dia, incluindo o café-da-manhã. O consumo energético deve ser preferencialmente maior durante o dia do que à noite (Seagle *et al.*, 2009).

O controle das porções, também com um razoável suporte de evidências científicas, pode ser utilizado como parte de um programa para o controle de peso, uma vez que tem impacto sobre a ingestão calórica total. É importante ressaltar que a redução das porções dos alimentos deve ser de alimentos não saudáveis (Seagle *et al.*, 2009).

4.3.2 Atividade física

A atividade física deve ser parte integral de um programa de emagrecimento (Health., 1998) mesmo tendo um impacto modesto sobre a perda de peso (Seagle *et al.*, 2009). Para a maior parte dos adultos é difícil obter o déficit calórico de 500 a 1000 kcal/dia recomendado para o emagrecimento somente através da atividade física (Seagle *et al.*, 2009). Entretanto, a atividade física pode auxiliar o processo de emagrecimento quando acompanhada de uma dieta de restrição calórica. Além disso, a prática regular de atividade física pode trazer benefícios à saúde como a redução do risco de diabetes tipo 2 e de doenças cardiovasculares (NICE, 2006).

5 RESULTADOS

5.1 CAPÍTULO 1

Obesity-related gene *ADRB2*, *ADRB3* and *GHRL* polymorphisms and the response to a weight loss diet intervention in adult women.

Louise F. Saliba^{1, 2}, Rodrigo S. Reis^{2,3}, Ross C. Brownson^{4, 5}, Adriano A. Hino^{2, 3}, Luciane V. Tureck¹, Cheryl Valko⁴, Ricardo L. R. de Souza¹ and Lupe Furtado-Alle¹

¹ Department of Genetics, Federal University of Parana (UFPR), Curitiba, PR, Brazil.

² School of Health and Biosciences, Pontifical Catholic University of Parana (PUC-PR), Curitiba, PR, Brazil.

³ Department of Physical Education, Federal University of Parana (UFPR), Curitiba, PR, Brazil.

⁴ Prevention Research Center in St. Louis, Brown School, Washington University in St. Louis, St. Louis, USA

⁵ Division of Public Health Sciences and Alvin J. Siteman Cancer Center, School of Medicine, Washington University in St. Louis, St. Louis, MO, USA

Short running title: *ADRB2*, *ADRB3*, *GHRL* and weight loss

Key words: obesity; weight loss; adrenergic receptor polymorphism; ghrelin polymorphism; nutrigenetics

Send correspondence to Louise Farah Saliba. Rua Imaculada Conceição, 1155, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Escola de Saúde e Biociências, 80215-901. Curitiba, PR, Brazil. E-mail: louise.saliba@pucpr.br

ABSTRACT

The individual response to diet may be influenced by gene polymorphisms. This study hypothesized that *ADRB2* (Gln27Glu, rs1042714 and Arg16Gly, rs1042713), *ADRB3* (Trp64Arg, rs4994) and *GHRL* (Leu72Met, rs696217) polymorphisms moderate weight loss. The study was a seven weeks dietary weight loss intervention with Brazilian adult obese women (n=109). The body mass index (BMI) was calculated and polymorphisms in these genes were assessed by real-time PCR assays. Two-way repeated-measures ANOVA (2 x 2) were used to analyze the intervention effect between polymorphisms and BMI over the period and after stratification for age and socioeconomic status (SES). The weight loss intervention resulted in decreased BMI over the seven-week period ($p < 0.001$), for high and low SES ($p < 0.05$) and mainly for participants with 30-49 y. The intervention did not result in a statistically significant difference in weight loss between polymorphism carriers and non-carriers, and although, the *ADRB2*, *ADRB3* and *GHRL* polymorphisms did not moderate weight loss, the Gln27Glu polymorphism carriers showed a lower BMI compared to non-carriers in the low SES ($p=0.018$) and the 30-39 y ($p=0.036$) groups, suggesting a role for this polymorphism related to BMI control.

INTRODUCTION

Many diseases and health conditions have been consistently associated with obesity (Swinburn *et al.*, 2004). Because of the burden represented by obesity and its increasing prevalence (Swinburn *et al.*, 2011) and the associated economic costs (Finkelstein *et al.*, 2005), this condition remains a challenge for many countries worldwide (Swinburn *et al.*, 2004). Over the last few decades, developing countries have experienced an increase in obesity among their population (Hossain *et al.*, 2007), particularly among the upper middle-income population (Dinsa *et al.*, 2012).

Although certain obesity treatments and recommendations for its prevention and control are well established (Avenell *et al.*, 2006; Seagle *et al.*, 2009), less than

one out of five patients succeed in maintaining their weight loss (Wing and Phelan, 2005). Individual engagement (Avenell *et al.*, 2006), environmental factors (e.g. access to food healthy choices) (Booth *et al.*, 2001), and public policies also affect weight control (Hill *et al.*, 2005) and help to explain why weight loss interventions are often ineffective. These characteristics represent a greater challenge for groups at risk for obesity, such as women, for whom obesity is more common than for males in many countries (Wells *et al.*, 2012). Furthermore, in developing countries, such as Brazil, gender inequality remains a major challenge to promoting healthy habits (Wells *et al.*, 2012).

Social and environmental factors are important mediators for weight control, and the environment may affect the control of food intake. For instance, appetite is regulated by physiological mechanisms, but an obesogenic environment may lead to overconsumption of food, thus affecting weight gain (Blundell, 2006). Additionally, the individual response to an obesogenic environment and to different diets may be related to gene polymorphisms (Hetherington and Cecil, 2010; Rudkowska and Perusse, 2012). In this context, the identification of genes and polymorphisms associated with obesity may predict a person's genetic risk for developing obesity. For instance, a personal genome profiling test may identify specific individuals as carriers (Loos, 2012) thus providing the basis for a "personalized" genetic approach to prevent or treat obesity (Bray, 2008). After years of searching for obesity-susceptibility genes (Loos, 2012), several specific genes have been identified.

Among the so-called obesity candidate genes, three genes, *ADRB2*, *ADRB3* and *GHRL* (Rankinen *et al.*, 2006), have been explored because of their link with energy balance. The *ADRB2* and *ADRB3* genes code for $\beta 2$ and $\beta 3$ adrenergic receptors, respectively. These receptors are part of the adrenergic system, which stimulates lipid mobilization in adipose tissue (Kurokawa *et al.*, 2008) through the action of catecholamines (epinephrine and norepinephrine) (Insel, 1996; Scofield *et al.*, 2002). The *GHRL* gene codes for ghrelin preprotein, which generates ghrelin, the most powerful orexigenic peptide, that creates a positive energy balance promoting food intake and decreasing energy expenditure (Kojima and Kangawa, 2005).

There are controversies and gaps regarding genes and obesity. Some studies found an association between obesity and polymorphisms of the genes *ADRB2*,

ADRB3 (Garenc *et al.*, 2003; Pereira *et al.*, 2003; de Luis *et al.*, 2008; Yamakita *et al.*, 2010) and *GHRL* (Korbonits *et al.*, 2002) whereas some did not (Oberkofler *et al.*, 2000; Rawson *et al.*, 2002; Kuriyama *et al.*, 2008) In addition, studies comparing the response to a weight loss diet between polymorphism carriers and non-carriers are still lacking, this being a limiting factor for developing a personalized diet for obesity treatment. In the present study we hypothesized that *ADRB2* (Gln27Glu, rs1042714 and Arg16Gly, rs1042713), *ADRB3* (Trp64Arg, rs4994) and *GHRL* (Leu72Met, rs696217) polymorphisms may moderate weight loss in adult obese women.

MATERIALS AND METHODS

Study design

This study was a dietary intervention for weight loss in 109 obese, adult women from southern Brazil. The study design was a quasi-experimental intervention lasting nine weeks (two weeks of pre-intervention and seven weeks of intervention, without a follow-up period) conducted from October to December of 2011 in Curitiba, Brazil.

The weight loss intervention had three components: an individual dietary intervention (three sessions), a nutritional group intervention (two sessions: healthy food choices lecture and nutrition labels reading workshop), and an orientation for physical activity (one session). The six sessions occurred over a period of seven weeks. The individual dietary intervention for weight loss was adapted by a nutritionist from the Nutrient-gene Interactions in Human Obesity: Implications for Dietary Guidelines (NUGENOB) protocol (<http://www.nugenob.org>) using the Brazilian Dietary Guidelines (Brasil., 2008) and the American Dietetic Association's position for weight management (Seagle *et al.*, 2009). Diet templates were calculated by a nutritionist and ranged from 1000 kcal to 2200 kcal with two options for dinner - salad, bread and cheese or salad, rice, beans and chicken. Each participant received one diet based on her estimated energy needs, with a 600 kcal caloric deficit. The dinner option was based on previous dietary habits reported at pre-intervention. The individual dietary intervention was supervised by a nutritionist and delivered by undergraduate students of the Nutrition Course at Pontifícia Universidade Católica do

Paraná The nutritional group intervention was designed and delivered by a nutritionist, and the physical activity orientation session was designed and supervised by a physical educator.

Participants

The participants were recruited through an advertisement tailored to adult obese women to take part in a research study aiming to reduce and control weight through educational strategies and behavioral changes on local television and radio stations. Those interested in participating attended a study screening at the University Pontifícia Universidade Católica do Paraná. The subjects who met the eligibility criteria were enrolled in the study.

Eligibility criteria for the study included: age ≥ 20 years, female, obese class \geq I (body mass index ≥ 30 kg/m²), generally healthy (e.g. no co-morbidities reported), pre-menopause (self-reported), not pregnant, non-lactating, ability to read and write and to consent to taking part in the research study. Subjects were excluded if on medication or dietary treatment for weight loss, if suffering from type I diabetes, hypothyroidism, chronic kidney disease or other uncontrolled chronic disease, if have had bariatric surgery, were vegetarian, or were not available to attend the study meetings.

Anthropometric measures

Height was measured at pre-intervention and weight at pre-intervention and post-intervention. The participants were measured without shoes and wearing light clothes. The body mass index (BMI) was calculated as weight (kg)/ height² (m), and the participants were classified according to obesity class (I to III) (WHO, 2000).

DNA and plasma analysis

Blood samples were collected from participants into tubes with EDTA, and DNA was extracted by a salting out method (Lahiri and Nurnberger, 1991) and diluted to 20 ng/ μ l final concentration. Genotyping of *ADRB2* (Arg16Gly and Gln27Glu, rs1042713 and rs1042714, respectively) *GHRL* (*L72M*, rs696217) and

ADRB3 (Trp64Arg, rs4994) polymorphisms were achieved using a *TaqMan*® SNP Genotyping Assay (*Applied Biosystems*). Reactions were performed in a Mastercycler Realplex 2 system (Eppendorf) with the following protocol: 50°C for 2 min, 95°C for 10 min, and 50 cycles of 95°C for 15 sec and 62°C for 1 min.

Previously sequenced control samples representing of each of the possible genotypes (normal homozygote, heterozygote and mutant homozygote) were included in every reaction for each of the four polymorphisms studied.

Statistical Analysis

Descriptive data for age, socioeconomic level and employment/study status were presented in categorical levels. Two-way repeated-measures ANOVA (2 x 2) were used to analyze the intervention effect between polymorphisms and the BMI over the period - two groups (carrier and non-carrier subjects) for each polymorphism (Arg16Gly, Gln27Glu, Trp64Arg and Leu72Met) and two periods (pre-intervention and post-intervention) - analyzing the effect of period, group, and the interaction between period and group. Subsequently, socioeconomic status (SES), age and baseline BMI were added as covariates. The same ANOVA analysis was then conducted after stratification for age and SES. SPSS version 19 for Windows was used for all statistical analyses and $p < 0.05$ was considered significant.

RESULTS

After advertising the study, 380 subjects attended the screening, 87 were considered ineligible (most with BMI $< 30 \text{ kg/m}^2$). Among the 293 eligible participants, 208 attended data collection, 200 started the intervention, and 109 had anthropometrical data collected and gene polymorphisms assessed at the end of the study. Most of the participants were between 30 and 39 years old, with a high socioeconomic level and were employed (Table 1). Regarding the BMI level, Obesity Class I was the most prevalent for participants at pre-intervention and post-intervention, with a shift from Obesity Class I to pre-obese after the intervention.

The weight loss intervention resulted in a statistically significant decrease in BMI over the seven-week period ($p < 0.001$) (Figure 1). Whereas most of the

participants (76.9%) had not moved to another BMI, 21.4% of the participants had dropped to a lower BMI category, and 1.7% had gone up one class.

Genotype distributions were in Hardy-Weinberg equilibrium for the four polymorphisms. There was no statistically significant different response to the weight loss intervention between polymorphism carriers and non-carriers (Figure 1). The *ADRB2* (Gln27Glu, rs1042714 and Arg16Gly, rs1042713), *ADRB3* (Trp64Arg, rs4994) and *GHRL* (Leu72Met, rs696217) polymorphisms did not moderate weight loss in the adult obese women. As no interaction was found between the gene polymorphisms and weight loss, the analysis was adjusted for the covariates SES, age and baseline BMI, but again, no difference was found. Hence only the not adjusted data are presented. Nonetheless, the *ADRB2* gene Gln27Glu polymorphism carriers showed a statistically significant ($p=0.006$) lower mean BMI compared to the non-carriers (Figure 1b), thus suggesting a protective effect of the polymorphism.

The within-subject analysis for BMI stratified for age did not result in a significant weight loss for younger (20-29 y group) and for older participants (≥ 50 y). The BMI pre and post-intervention significance was lost for the ≥ 50 y group, except for the Gln27Glu polymorphism of the *ADRB2* gene ($p=0.013$). For the SES stratified analysis, the weight loss diet intervention resulted in changes in BMI for both high and low SES ($p < 0.05$). The between-subjects analysis for BMI stratified for SES and age, comparing carriers and non-carriers of the *ADRB2* gene Gln27Glu polymorphism, showed a different result. A likely protective effect found for carriers was seen only for the low SES ($p=0.018$) and the 30-39 y group ($p=0.036$). The mean BMI difference for the Gln27Glu allele group was 0.43, 0.88, 1.1 and 1.24 kg/m² for the 20-29 y, 30-39 y, 40-49 y and ≥ 50 y categories, respectively. The addition of age as covariate to the model ($p=0.03$) confirmed the tendency shown for the Gln27Glu allele group, showing a concomitant increase in the mean BMI difference across age group.

DISCUSSION

In this study, the polymorphism Arg16Gly, Gln27Glu, Trp64Arg and Leu72Met carriers and non-carriers did not respond differently to the weight loss diet intervention. There was no interaction effect between weight loss and genetic polymorphisms. The differences in genotype did not lead to greater or lesser weight loss. The diet intervention done with adult obese women resulted in a statistically significant weight loss for the groups 30-39 y and 40-49 y, for the Gln27Glu carriers in the ≥ 50 y group, but not for the 20-29 y group. Perhaps due to the small number of participants, the significance was lost in the ≥ 50 y group. Such reasoning may, however, not apply to the 20-29 y group, as the mean BMI difference stratified for age was smaller when compared with the non-stratified analysis. In other words, it seems that the intervention did not result in a significant weight loss for participants with age between 20 to 29 years.

Although the Gln27Glu allele carriers did not respond differently to the intervention, the low SES and the 30-39 y groups showed a lower mean BMI at pre-intervention and after intervention when compared to non-carriers. This difference between carriers and non-carriers suggests a protective effect for the polymorphic allele. It thus seems that Gln27Glu polymorphism carriers in a low SES condition were somewhat protected against a higher BMI when compared to non-carriers. With respect to age, it seems that older individuals responded more strongly to the weight loss intervention. This may be related to a different perception of disease risks and their implications. For the 30-39 y group, the significant result is possibly due to the larger number of participants in this group when compared to the other age categories. Probably there is an interaction effect between weight loss and age, but due to the low number of participants in the other age categories this could not be revealed. This study contributes to the field of nutrigenetics and to the knowledge of obesity-related genotype and the potential weight loss response aiming a personalized diet for obesity treatment.

The ADRB2 and ADRB3 adrenergic receptors play a role in the lipolysis regulation activating lipid mobilization from fat stores (Enocksson *et al.*, 1995; Arner and Hoffstedt, 1999; Takenaka *et al.*, 2012), with ADRB2 apparently being the main receptor in this function (Enocksson *et al.*, 1995). Although both are related to the lipid metabolism, and polymorphisms of these genes were seen to cause differences

in energy expenditure (Takenaka *et al.*, 2012), we did not find any effect of the *ADRB2* and *ADRB3* polymorphisms in response to a weight loss intervention. For ghrelin, which has a unique capacity to increase food intake and is a central modulator of energy homeostasis (Castaneda *et al.*, 2010), we also did not find an effect between the Leu72Met polymorphism and weight loss response.

Although it is well known that genes are associated with obesity-related traits (Moreno-Aliaga *et al.*, 2005; Rankinen *et al.*, 2006), the understanding is not complete. The results are controversial and most of the studies with *ADRB2*, *ADRB3* and *GHRL* polymorphisms are observational studies. For instance, an observational study by Daghestani *et al.* (2012) found an association between weight gain and the Arg16Gly polymorphism of the *ADRB2* gene, and another (Schmidt *et al.*, 2011) found an association with higher body mass index and waist circumference among men. However, Jalba *et al.* (2008) did not find an association between this polymorphism and obesity, and Lange *et al.* (2005) did not find an association with any of adiposity measures.

Several intervention studies have been conducted, but they are lacking consistent results and an in-depth understanding of the relationship between genes and obesity. Two intervention studies found no differences between carriers and non-carriers and weight loss and weight gain response, respectively (Ukkola *et al.* 2001b; Ruiz *et al.*, 2011), and their results are consistent with our results, suggesting that the Arg16Gly polymorphism may not be associated with weight loss.

For the Gln27Glu polymorphism of the *ADRB2* gene, the observational studies showed controversial results. For instance, no significant differences were found for obesity-related traits between subjects with and without the *ADRB2* polymorphism (Schmidt *et al.*, 2011) and neither showed an association with obesity in a meta-analysis (Jalba *et al.*, 2008). However, (Lange *et al.*, 2005) found that the Glu27Glu genotype was associated with higher BMI. Considering intervention studies, the Gln27Glu polymorphism seems to be protective to weight balance, and the results, including ours, show some consistency in this respect. One study (Ukkola *et al.*, 2001b) found that non-carriers of the Gln27Gln polymorphism gained more weight when exposed to long-term overfeeding, and another more recent study (Ruiz *et al.*, 2011) found that women carrying the Gln27Glu allele lost more weight than

non-carriers. These results are consistent with ours - we found that the carriers had a significantly lower BMI at pre-intervention and post-intervention in comparison to non-carriers – although there was no difference in weight loss response between carriers and non-carriers.

The studies on the Trp64Arg polymorphism of the *ADRB3* gene and obesity-related traits also showed contradictory results. Whereas one study found such an association for obese males and females, with the carrier group having a higher weight and BMI than the non-carrier group (de Luis *et al.*, 2008), two studies found no association. In accordance with our results, (Rawson *et al.*, 2002) found no difference for BMI between Trp64Arg mutation carriers and non-carriers, although, differently from ours, their patients were post-menopausal, and (Schmidt *et al.*, 2011) found no association between BMI and waist circumference.

For the Leu72Met polymorphism of the *GHRL* gene, the results are even more divergent. One study has shown that the Leu72Met polymorphism is associated with early onset of obesity (Ukkola *et al.*, 2001a), but another (Ando *et al.*, 2007) found no significant differences between the Leu72Met genotype and anthropometric measures relevant to obesity. In addition, this polymorphism seems to be protective for fat accumulation (Ukkola *et al.*, 2002). The lack of diet-induced weight-loss intervention studies and *GHRL* gene polymorphisms limits the comparison with our study.

Candidate gene and genome-wide linkage approaches are used for more than 15 years in the search for genes related to obesity (Loos, 2012). Such studies are useful for identifying the possible genes or related polymorphisms. Once the possible genes or polymorphisms are identified they can be investigated in observational designs and have their hypothesis tested in intervention studies. Our study is a well-controlled intervention, with four important polymorphisms, and adds to understanding the relationship between genes and the weight loss response. This is especially so for Brazil, an emerging country in a nutrition transition (Popkin, 2004), where, to our knowledge, only few studies exist on nutrition and genetics, specifically nutrigenetics, and where most studies were not developed to assess gene effects on weight loss as a primary aim (Moreno-Aliaga *et al.*, 2005).

Notwithstanding, several limitations need to be considered: the lack of intervention studies for comparing the results, especially with *GHRL* genes; the duration of intervention may have been too short, or more specific markers (i.e. biochemical or ones related to energy expenditure) are needed to capture an effect. Other limitations are the convenience sample, sample size and missing data for some key variables (i.e., Arg16Gly polymorphism of the *ADRB2* gene) that may have undermined the power to explain negative effects. Furthermore, considering that each genetic polymorphism has some contribution to differences in BMI (Kurokawa *et al.*, 2008), an interaction assessment between genes and polymorphisms should give a better understanding on this relationship. Finally, the lack of data on the external food environment and dietary intake may limit the comprehension of the genes-nutrition interaction.

To better understand the relationship between nutrition and genes, more intervention studies with specific markers, based on functional pathways (Bray, 2008) are needed. In addition, studies identifying the functional significance of a polymorphism, as suggested for a ghrelin single nucleotide polymorphism (SNP) (Ukkola, 2011), including the role of the polymorphisms studied on BMI control, may help to elucidate divergent results and could provide support in hypothesis testing of specific polymorphisms in clinical trials. Studies that assess the food environment may also help to explain results showing the relationship between obesity and genes and environmental factors (Ukkola, 2011; Drong *et al.*, 2012).

Although a personalized nutrition and genetic approach to obesity intervention is expected in the future (Bray, 2008; Abete *et al.*, 2012), it is too early to apply this (Isaak and Siow, 2013). This study was developed specifically to observe the effect of genes on weight loss and adds to the understanding of the relationship between genes, nutrition and obesity. In summary, we did not find an effect between the Arg16Gly, Gln27Glu, Trp64Arg and Leu72Met polymorphisms and the weight loss response to a diet-induced energy restriction in obese women. But the *ADRB2* Gln27Glu polymorphism seems to have a role related to BMI control, as polymorphism carriers in the low SES and 30-39 y groups had a lower BMI compared

to non-carriers, suggesting a need for further in-depth investigation. In the context of a personalized diet, this study helps to build the knowledge needed to translate this into evidence-based practice.

ACKNOWLEDGMENTS

The study was supported by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) scholarship (0194/12-3). The authors are thankful to all study participants and all undergrad students contribution on data collection and analyses.

ETHICAL ISSUES

All procedures followed were in accordance with the ethical standards of the responsible committee on human experimentation from Pontifical Catholic University of Parana's Institutional Ethics Board and the experiment complied with the current laws of Brazil. Informed consent was obtained from all participants. IEB approval number: (0005306/11).

REFERENCES

Abete I, Navas-Carretero S, Marti A and Martinez JA (2012) Nutrigenetics and nutrigenomics of caloric restriction. *Progr Mol Biol Translational Sci* 108:323-346.

Ando T, Ichimaru Y, Konjiki F, Shoji M and Komaki G (2007) Variations in the preproghrelin gene correlate with higher body mass index, fat mass, and body dissatisfaction in young Japanese women. *Am J Clin Nutr* 86:25-32.

Avenell A, Sattar N and Lean M (2006) ABC of obesity. Management: Part I - behaviour change, diet, and activity. *BMJ* 333:740-743.

Blundell JE (2006) Perspective on the central control of appetite. *Obesity (Silver Spring)* 14 Suppl 4:160S-163S.

Booth SL, Sallis JF, Ritenbaugh C, Hill JO, Birch LL, Frank LD, Glanz K, Himmelgreen DA, Mudd M, Popkin BM, *et al.* (2001) Environmental and societal factors affect food choice and physical activity: rationale, influences, and leverage points. *Nutr Rev* 59:S21-S39; discussion S57-S65.

Brasil (2008) Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Guia alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável. Ministério da Saúde, Brasília.

Bray MS (2008) Implications of gene-behavior interactions: prevention and intervention for obesity. *Obesity (Silver Spring)* 16 Suppl 3:S72-S78.

Castaneda TR, Tong J, Datta R, Culler M and Tschop MH (2010) Ghrelin in the regulation of body weight and metabolism. *Front Neuroendocrinol* 31:44-60.

Daghestani MH, Warsy A, Al-Odaib AN, Eldali A, Al-Eisa NA, Omer SA and Hassan ZK (2012) Arginine 16 Glycine polymorphism in beta2-Adrenergic Receptor Gene is associated with obesity, hyperlipidemia, hyperleptinemia, and insulin resistance in Saudis. *Int J Endocrinol* 2012:945608.

de Luis DA, Aller R, Izaola O, Gonzalez Sagrado M and Conde R (2008) Relation of Trp64Arg polymorphism of beta 3-adrenergic receptor gene to adipocytokines and fat distribution in obese patients. *Ann Nutr Metab* 52:267-271.

Dinsa GD, Goryakin Y, Fumagalli E and Suhrcke M (2012) Obesity and socioeconomic status in developing countries: a systematic review. *Obes Rev* 13:1067-1079.

Drong AW, Lindgren CM and McCarthy MI (2012) The genetic and epigenetic basis of type 2 diabetes and obesity. *Clin Pharmacol Ther* 92:707-715.

Enocksson S, Shimizu M, Lonnqvist F, Nordenstrom J and Arner P (1995) Demonstration of an *in vivo* functional beta 3-adrenoceptor in man. *J Clin Invest* 95:2239-2245.

Finkelstein EA, Ruhm CJ and Kosa KM (2005) Economic causes and consequences of obesity. *Annu Rev Public Health* 26:239-257.

Garenc C, Perusse L, Chagnon YC, Rankinen T, Gagnon J, Borecki IB, Leon AS, Skinner JS, Wilmore JH, Rao DC and Bouchard C (2003) Effects of beta2-adrenergic receptor gene variants on adiposity: the HERITAGE Family Study. *Obes Res* 11:612-618.

Hetherington MM and Cecil JE (2010) Gene-environment interactions in obesity. *Forum Nutr* 63:195-203.

Hill JO, Thompson H and Wyatt H (2005) Weight maintenance: what's missing? *J Am Diet Assoc* 105:S63-S66.

Hossain P, Kavar B and El Nahas M (2007) Obesity and diabetes in the developing world - a growing challenge. *N Engl J Med* 356:213-215.

Insel PA (1996) Seminars in medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. Adrenergic receptors - evolving concepts and clinical implications. *N Engl J Med* 334:580-585.

Isaak CK and Siow YL (2013) The evolution of nutrition research. *Can J Physiol Pharmacol* 91:257-267.

Jalba MS, Rhoads GG and Demissie K (2008) Association of codon 16 and codon 27 beta 2-adrenergic receptor gene polymorphisms with obesity: a meta-analysis. *Obesity (Silver Spring)* 16:2096-2106.

Kojima M and Kangawa K (2005) Ghrelin: structure and function. *Physiol Rev* 85:495-522.

Korbonits M, Gueorguiev M, O'Grady E, Lecoer C, Swan DC, Mein CA, Weill J, Grossman AB and Froguel P (2002) A variation in the ghrelin gene increases weight and decreases insulin secretion in tall, obese children. *J Clin Endocrinol Metab* 87:4005-4008.

Kurokawa N, Young EH, Oka Y, Satoh H, Wareham NJ, Sandhu MS and Loos RJ (2008) The ADRB3 Trp64Arg variant and BMI: a meta-analysis of 44 833 individuals. *Int J Obes* 32:1240-1249.

Lahiri DK and Nurnberger Jr JI (1991) A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Res* 19:5444.

Lange LA, Norris JM, Langefeld CD, Nicklas BJ, Wagenknecht LE, Saad MF and Bowden DW (2005) Association of adipose tissue deposition and beta-2 adrenergic receptor variants: the IRAS family study. *Int J Obes* 29:449-457.

Loos RJ (2012) Genetic determinants of common obesity and their value in prediction. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 26:211-226.

Mattevi VS, Zembruski VM and Hutz MH (2006) Impact of variation in ADRB2, ADRB3, and GNB3 genes on body mass index and waist circumference in a Brazilian population. *Am J Hum Biol* 18:182-186.

Moreno-Aliaga MJ, Santos JL, Marti A and Martinez JA (2005) Does weight loss prognosis depend on genetic make-up? *Obes Rev* 6:155-168.

Oberkofler H, Esterbauer H, Hell E, Krempler F and Patsch W (2000) The Gln27Glu polymorphism in the beta2-adrenergic receptor gene is not associated with morbid obesity in Austrian women. *Int J Obes Relat Metab Disord* 24:388-390.

Pereira AC, Floriano MS, Mota GF, Cunha RS, Herkenhoff FL, Mill JG and Krieger JE (2003) Beta2 adrenoceptor functional gene variants, obesity, and blood pressure level interactions in the general population. *Hypertension* 42:685-692.

Popkin BM (2004) The nutrition transition: an overview of world patterns of change. *Nutr Rev* 62:S140-143.

Rankinen T, Zuberi A, Chagnon YC, Weisnagel SJ, Argyropoulos G, Walts B, Perusse L and Bouchard C (2006) The human obesity gene map: the 2005 update. *Obesity (Silver Spring)* 14:529-644.

Rawson ES, Nolan A, Silver K, Shuldiner AR and Poehlman ET (2002) No effect of the Trp64Arg beta(3)-adrenoceptor gene variant on weight loss, body composition, or energy expenditure in obese, caucasian postmenopausal women. *Metabolism* 51:801-805.

Rudkowska I and Perusse L (2012) Individualized weight management: what can be learned from nutrigenomics and nutrigenetics? *Progr Mol Biol Translational Sci* 108:347-382.

Ruiz JR, Larrarte E, Margareto J, Ares R and Labayen I (2011) Role of beta(2)-adrenergic receptor polymorphisms on body weight and body composition response to energy restriction in obese women: preliminary results. *Obesity (Silver Spring)* 19:212-215.

Scofield MA, Deupree JD and Bylund DB (2002) Adrenergic receptor genes: cDNA and genomic library construction. *Mol Biotechnol* 21:171-197.

Seagle HM, Strain GW, Makris A and Reeves RS (2009) Position of the American Dietetic Association: weight management. *J Am Diet Assoc* 109:330-346.

Swinburn BA, Caterson I, Seidell JC and James WP (2004) Diet, nutrition and the prevention of excess weight gain and obesity. *Public Health Nutr* 7:123-146.

Swinburn BA, Sacks G, Hall KD, McPherson K, Finegood DT, Moodie ML and Gortmaker SL (2011) The global obesity pandemic: shaped by global drivers and local environments. *Lancet* 378:804-814.

Takenaka A, Nakamura S, Mitsunaga F, Inoue-Murayama M, Udono T and Suryobroto B (2012) Human-specific SNP in obesity genes, adrenergic receptor beta2 (ADRB2), Beta3 (ADRB3), and PPAR gamma2 (PPARG), during primate evolution. *PLoS One* 7:e43461.

Ukkola O (2011) Genetic variants of ghrelin in metabolic disorders. *Peptides* 32:2319-2322.

Ukkola O, Ravussin E, Jacobson P, Snyder EE, Chagnon M, Sjostrom L and Bouchard C (2001a) Mutations in the preproghrelin/ghrelin gene associated with obesity in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 86:3996-3999.

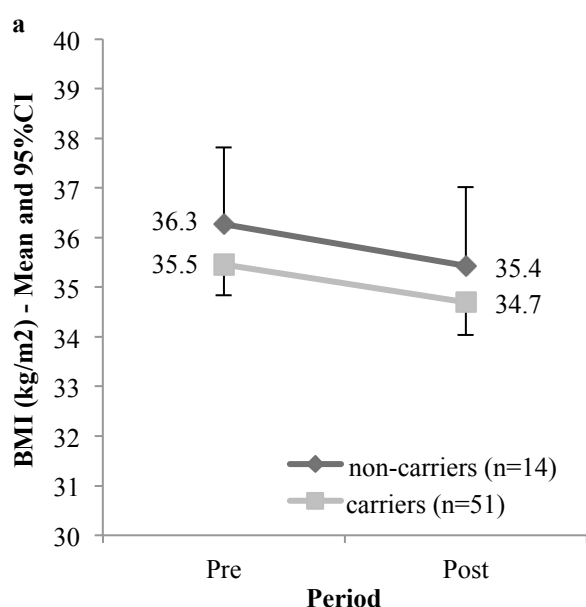
Ukkola O, Tremblay A and Bouchard C (2001b) Beta-2 adrenergic receptor variants are associated with subcutaneous fat accumulation in response to long-term overfeeding. *Int J Obes Relat Metab Disord* 25:1604-1608.

Ukkola O, Ravussin E, Jacobson P, Perusse L, Rankinen T, Tschop M, Heiman ML, Leon AS, Rao DC, Skinner JS, Wilmore JH, Sjostrom L and Bouchard C (2002) Role of ghrelin polymorphisms in obesity based on three different studies. *Obes Res* 10:782-791.

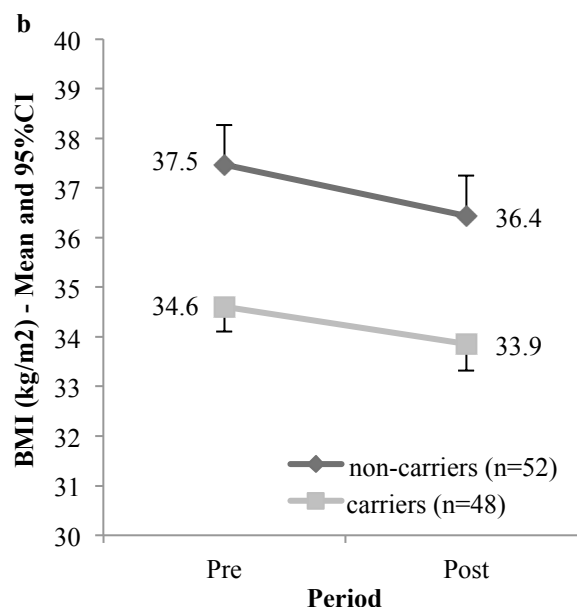
Wells JC, Marphatia AA, Cole TJ and McCoy D (2012) Associations of economic and gender inequality with global obesity prevalence: understanding the female excess. *Soc Sci Med* 75:482-490.

WHO (2000) Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. *World Health Organ Tech Rep Ser* 894, 253 pp.

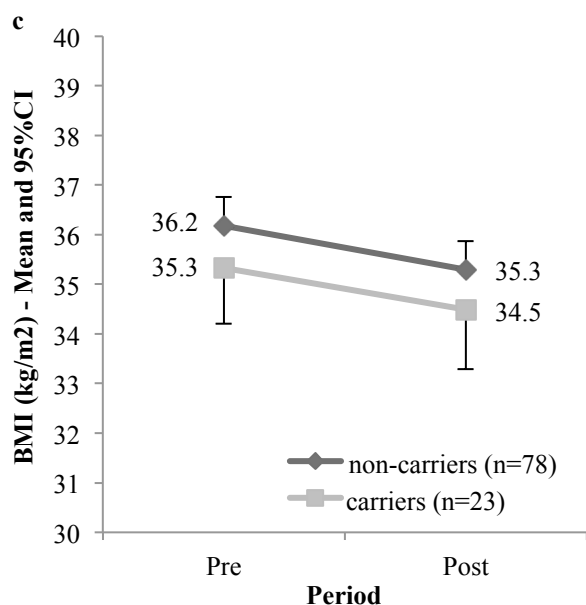
Wing RR and Phelan S (2005) Long-term weight loss maintenance. *Am J Clin Nutr* 82:222S-225S.



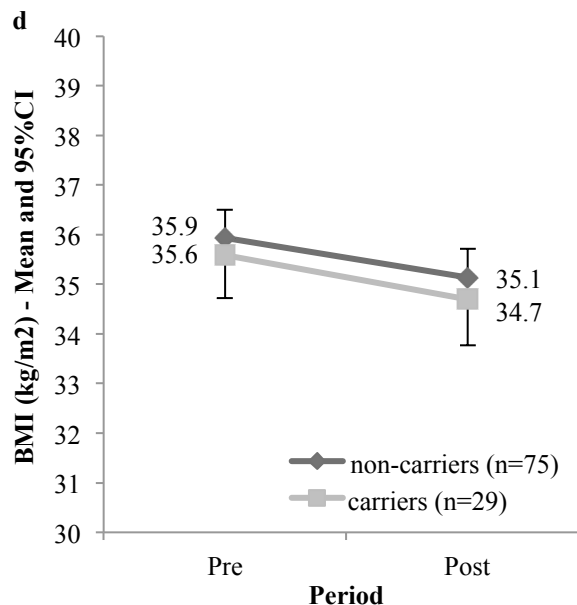
1a) Arg16Gly (for period $F=16.95$; $p<0.001$; for polymorphism $F=0.28$; $p=0.596$; for period vs. polymorphism $F=0.05$; $p=0.830$).



1b) Gln27Glu (for period $F=49.79$; $p<0.001$; for polymorphism $F=7.87$; $p=0.006$; for period vs. polymorphism $F=1.22$; $p=0.272$).



1c) Trp64Arg (for period $F=31.57$; $p<0.001$; for polymorphism $F=0.47$; $p=0.494$; for period vs. polymorphism $F=0.02$; $p=0.877$).



1d) Leu72Met (for period $F=39.05$; $p<0.001$; for polymorphism $F=0.14$; $p=0.709$; for period vs. polymorphism $F=0.13$; $p=0.718$).

FIGURE 1 – Relationship of body mass index (BMI) and pre and post (period) weight-loss diet intervention and the polymorphisms carrier and non-carriers of (a) the *ADRB2* gene Arg16Gly polymorphism, (b) the *ADRB2* gene Gln27Glu polymorphism, (c) the *ADRB3* gene Trp64Arg polymorphism, and (d) the *GHRL* gene Leu72Met polymorphism in the adult obese women.

TABLE 1 - Characteristics of obese women participants in a weight loss intervention study with polymorphisms of the *ADRB2*, *ADRB3* and *GHRL* genes, done in 2011 in Curitiba, Brazil (n =109).

Characteristics	n	%	% missing
Age (years)			
20-29	17	15.6	
30-39	49	45.0	
40-49	35	32.1	
≥50	8	7.3	
Socioeconomic status			
High	65	59.6	
Intermediate and Low	44	40.4	
Currently employed (paid job)			
No	29	29.6	10.1
Yes	69	70.4	
Currently enrolled in school/college			
No	77	80.2	11.9
Yes	19	19.8	
Pre-intervention			
Obese Class I (30 -34.9 kg/m ²)	61	56.0	
Obese Class II (35 -39.9 kg/m ²)	27	24.8	
Obese Class III (≥ 40 kg/m ²)	21	19.2	
Post-intervention			
Pre-obese (25 -29.9 kg/m ²)	13	11.9	
Obese Class I (30 -34.9 kg/m ²)	53	48.6	
Obese Class II (35 -39.9 kg/m ²)	25	23.0	
Obese Class III (≥ 40 kg/m ²)	18	16.5	
Genes			
<i>ADRB2</i> gene Arg16Gly polymorphism			
Non-carrier	14	21.5	40.4
Carrier	51	78.5	
<i>ADRB2</i> gene Gln27Glu polymorphism			
Non-carrier	52	52.0	8.3
Carrier	48	48.0	
<i>ADRB3</i> gene Trp64Arg polymorphism			
Non-carrier	78	77.2	7.3
Carrier	23	22.8	
<i>GHRL</i> gene Leu72Met polymorphism			
Non-carrier	75	72.1	4.6
Carrier	29	27.9	

5.2 CAPÍTULO 2

Polimorfismos dos genes *ADRB2*, *ADRB3* e *GHRL* e resposta à restrição calórica por meio de uma intervenção dietética para redução de peso sobre a circunferência da cintura e perfil lipídico em adultas obesas.

RESUMO

Existe variação interindividual na resposta aos tratamentos contra a obesidade, assim, genes relacionados à obesidade e seus polimorfismos, tem sido investigados. O objetivo deste estudo foi investigar a resposta à restrição calórica por meio de uma intervenção dietética em mulheres portadoras de polimorfismos do gene *ADRB2*, *ADRB3* e *GHRL* sobre a circunferência da cintura e o perfil lipídico. Foi realizada restrição calórica por meio de uma intervenção dietética, com desenho *quasi-experimental* em adultas obesas (n=120). Foram coletados dados de circunferência da cintura, colesterol total, colesterol da LDL, colesterol da HDL e triglicérides e analisados os polimorfismos Arg16Gly e Gln27Glu do gene *ADRB2*; Trp64Arg do gene *ADRB3* e Leu72Met do gene *GHRL* por genotipagem TaqMan®. Para testar o efeito dos polimorfismos sobre as variáveis foi utilizada análise de regressão logística *stepwise forward conditional*. Para avaliar a diferença antes e após a intervenção dietética foi utilizado o teste de Wilcoxon e para comparar as médias dos parâmetros entre os grupos na pré e na pós-intervenção foi utilizado o teste U de Mann-Whitney. Valores <0,05 foram considerados significantes. Na análise longitudinal do efeito dos polimorfismos, não foi identificada resposta diferente à intervenção para portadoras e não-portadoras dos polimorfismos Arg16Gly e Gln27Glu; Trp64Arg e Leu72Met sobre a circunferência da cintura, colesterol, HDL-C, LDL-C, e triglicérides plasmáticos. A intervenção dietética reduziu a circunferência da cintura (p<0,001), o colesterol (p=0,003) e o HDL-C (p<0,001), entretanto, as portadoras do polimorfismo Arg16Gly (p=0.015) e Gln27Glu (p=0.046) e as não-portadoras do Leu72Met (p=0.002) apresentaram uma média maior de redução para o colesterol. Na análise transversal, a média dos triglicérides para as portadoras do polimorfismo Arg16Gly foi maior tanto na pré (p=0,014) quanto na pós-intervenção (p=0,018). Neste estudo, não foi identificado efeito dos polimorfismos Arg16Gly e Gln27Glu, Trp64Arg e Leu72Met sobre a circunferência da cintura e perfil lipídico. Entretanto, os dados sugerem que os polimorfismos Arg16Gly, Gln27Glu e Leu72Met tem algum efeito sobre o metabolismo lipídico.

Palavras-chaves: *ADRB2*. *ADRB3*, *GHRL*. Nutrigenética. Obesidade. Perda de peso.

INTRODUÇÃO

A epidemia generalizada de obesidade com o consequente aumento na prevalência de diabetes e hipertensão representa uma ameaça adicional às doenças crônicas não-transmissíveis (Schmidt *et al.*, 2011), sendo a reversão desta situação o objetivo de muitos países (Swinburn *et al.*, 2011). Os tratamentos para o controle de peso incluem modificações no estilo de vida, na alimentação e na prática de exercícios físicos, além de farmacoterapia e cirurgias (Bray, 2008). Estes tratamentos visam o controle de peso e a redução de indicadores de risco, como por exemplo, a circunferência da cintura, que é indicador de complicações metabólicas da adiposidade, e os triglicérides, os quais, junto com o colesterol e suas frações, apontam para o risco de doenças cardiovasculares (Bays *et al.*, 2013).

Ainda que as formas de tratamento da obesidade estejam estabelecidas, existe uma variação interindividual na resposta (Andreasen and Andersen, 2009), assim, genes relacionados à obesidade, chamados genes candidatos à obesidade, tem sido investigados visando esta compreensão (Loos, 2012). Entre estes genes estão os relacionados ao controle energético e metabolismo lipídico, como o *ADRB2*, *ADRB3* e *GHRL*. Os genes *ADRB2* e *ADRB3* codificam para os receptores beta-adrenérgicos $\beta 2$ e $\beta 3$. Estes receptores são parte do sistema adrenérgico e estão relacionados à mobilização de gordura no tecido adiposo (Kurokawa *et al.*, 2008) através da ação das catecolaminas (Schofield *et al.*, 2002). A grelina está relacionada à ingestão alimentar e ao decréscimo do gasto energético (Kojima and Kangawa, 2005) e é um hormônio gástrico (Cheng *et al.*, 2010) derivado da pré-prorelina, a qual é codificada pelo gene *GHRL*. Neste contexto, diferentes polimorfismos genéticos tem sido estudados visando auxiliar a compreensão da variação individual nas respostas às intervenções (Herrera *et al.*, 2011).

Entre os polimorfismos estudados estão o Arg16Gly e Gln27Glu do gene *ADRB2*, o Trp64Arg do gene *ADRB3* e o Leu72Met do gene *GHRL*. O polimorfismo Arg16Gly do gene *ADRB2* tem sido associado com parâmetros lipídicos (Daghestani *et al.*, 2012) e o Gln27Glu do gene *ADRB2* (Lange *et al.*, 2005) e o Trp64Arg do gene *ADRB3* (de Luis *et al.*, 2008) com a circunferência da cintura. Entretanto, os resultados são controversos. Não foi identificada associação entre medidas de

adiposidade e o polimorfismo Arg16Gly do gene *ADRB2* (Lange *et al.*, 2005). Além disso, estudos sobre o efeito do polimorfismo Leu72Met do gene *GHRL* sobre parâmetros metabólicos apontaram que o alelo Leu72Met estava associado com HDL-C mais baixo e triglicérides mais altos (Steinle *et al.*, 2005) e com IMC mais baixo (Ukkola *et al.*, 2002), entretanto mais estudos sobre as variantes da grelina são necessários (Ukkola, 2011).

Dentro deste contexto e considerando que estudos de nutrigenética auxiliam a compreensão da interação dos genes com a nutrição (Abete *et al.*, 2012), o presente estudo teve por objetivo identificar a resposta à restrição calórica por meio de uma intervenção dietética para a redução de peso em portadoras dos polimorfismos Arg16Gly (rs1042713) e Gln27Glu (rs1042714) do gene *ADRB2*, Trp64Arg (rs4994) do gene *ADRB3* e Leu72Met (rs696217) do gene *GHRL*, sobre parâmetros como a circunferência da cintura e o perfil lipídico.

MÉTODOS

Desenho do Estudo

Foi realizada uma intervenção dietética com restrição calórica para redução de peso em mulheres adultas obesas com um delineamento do tipo *quasi-experimental* com duração de nove semanas (duas semanas de pré-intervenção seguidas de sete semanas de intervenção e sem *follow-up*). Foram avaliados genes relacionados ao metabolismo energético e lipídico, parâmetros bioquímicos e antropométrico. O estudo foi desenvolvido em Curitiba entre outubro e dezembro de 2011 nas instalações da Pontifícia Universidade Católica do Paraná e no Departamento de Genética da UFPR. Os encontros ocorreram aos sábados para facilitar a aderência das participantes à intervenção.

A intervenção nutricional para a redução de peso teve três componentes: orientação dietética individual com três sessões; orientação dietética em grupo com duas sessões, sendo uma sobre escolhas alimentares saudáveis e a outra sobre leitura de rótulos; e uma sessão única sobre atividade física, com o objetivo de esclarecer sobre a prática de exercícios físicos. As seis sessões ocorreram ao longo

do período da intervenção. As sessões individuais de nutrição foram realizadas por estudantes de graduação em Nutrição com a supervisão da nutricionista pesquisadora responsável, a qual desenvolveu e aplicou também as sessões de Nutrição em grupo. Para a orientação dietética individual, foram desenvolvidos modelos de dieta padronizados, com um déficit calórico de 600 calorias/dia, a partir do protocolo do estudo *Nutrient-Gene Interactions in Human Obesity: Implications for Dietary Guidelines (NUGENOB) protocol* (<http://www.nugenob.org>), em conjunto com as recomendações sobre ingestão de frutas, hortaliças e leguminosas do Guia Alimentar da População Brasileira (Brasil., 2008) e recomendações para controle de peso (Seagle *et al.*, 2009) com três porções de laticínios, com quatro refeições e com maior distribuição de calorias durante o dia. Os modelos de dieta foram calculados com o software DietPro, com 1000 kcal até 2200 kcal, com intervalos de 100 kcal entre cada modelo, totalizando 13 opções de calorias. Para cada valor de calorias, foram calculadas as refeições com alimentos padronizados para café-da-manhã, almoço, lanche da tarde e duas opções, também padronizadas, de jantar, como arroz, salada e frango ou pão, queijo e salada, totalizando 26 modelos de dietas. Para definir o modelo de dieta prescrito, foi realizado o cálculo das necessidades energéticas (Seagle *et al.*, 2009) com um déficit de 600 kcal, sendo este déficit calórico, obtido em maior parte na redução de gordura dietética (Seagle *et al.*, 2009), focando 20%, o valor mínimo de ingestão dietética de gordura para adultos (Barr, 2006). Para definir entre uma das duas opções de jantar, foi identificado o hábito alimentar desta refeição previamente registrada no recordatório alimentar registrado na pré-intervenção. Para ampliar as opções de alimentos para as participantes do estudo, foi desenvolvida uma lista de substituições com alimentos saudáveis, também calculada no software DietPro. Para a escolha dos alimentos para compor esta lista foram priorizados aqueles com maior volume e menor densidade calórica.

Participantes

As participantes foram convidadas através da mídia local (televisão e rádio) a comparecer a uma palestra explicativa do estudo. Aquelas interessadas

compareceram em data e local designados. As candidatas que se encaixaram nos critérios de elegibilidade foram convidadas a iniciar o estudo.

Foram considerados os seguintes critérios de inclusão: idade ≥ 20 anos; sexo feminino; IMC ≥ 30 kg/m²; com saúde aparente; no período anterior ao climatério; não gestante; não lactante; com nível intermediário de alfabetização (capacidade de ler e escrever um texto breve) e aceitar participar da pesquisa. As mulheres foram excluídas nas seguintes situações: estar em tratamento dietoterápico ou medicamentoso para redução de peso; ser portadora de diabetes tipo I; de hipotireoidismo e/ou doença renal crônica e/ou hipertensão ou de doença crônica não controlada; ter feito cirurgia para redução de estômago; ser vegetariana; não ter disponibilidade para comparecer aos encontros na Universidade aos Sábados. Não foi questionado sobre o uso de medicamentos com objetivo de tratamento psiquiátrico. Aquelas elegíveis a participarem da pesquisa foram esclarecidas sobre o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Todas as participantes da pesquisa leram e assinaram o TCLE. A pesquisa foi submetida e aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (parecer número 0005306/11).

Circunferência da cintura

A circunferência da cintura foi medida na pré-intervenção e na pós intervenção, conforme protocolo (NICE, 2006), por estudantes de Educação Física. Em relação a classificação da circunferência da cintura, valores >88 cm foram considerados como adiposidade abdominal (Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III), 2001).

Perfil lipídico

Para a coleta de sangue as participantes foram orientadas previamente a

fazer 12 h de jejum, a evitar ingestão de álcool e atividade física vigorosa nas 72 e 24 horas antecedentes à coleta, respectivamente. O material foi acondicionado e encaminhado para laboratório de análises clínicas para avaliação do perfil lipídico, colesterol total (CT), colesterol da lipoproteína de densidade baixa (LDL-C), colesterol da lipoproteína de densidade alta (HDL-C) e triglicérides (TG). Para a interpretação dos dados bioquímicos, foram utilizadas as referências da V Diretriz Brasileira de Dislipidemia e Prevenção da Aterosclerose (Xavier H. T., 2013b). Foram considerados os valores para colesterol total, como desejável: < 200; limítrofe: 200 a 239; alto: ≥ 240; para colesterol da lipoproteína de densidade baixa, como ótimo: < 100; desejável: 100 a 129; limítrofe: 130 a 159; alto: 160 a 189; muito alto: ≥ 190; para colesterol da lipoproteína de densidade alta, como baixo: < 40; desejável: > 60; e para triglicérides, como desejável: < 150; limítrofe: 150 a 199; alto: 200 a 499; muito alto: ≥ 500.

Análise do DNA

As amostras de sangue das participantes foram coletadas em tubos com EDTA. O DNA das amostras de sangue das participantes foi extraído conforme técnica estabelecida (Lahiri and Nurnberger, 1991) e diluído a uma concentração final de 20 ng/μl. A genotipagem dos polimorfismos dos genes *ADRB2* (Arg16Gly e Gln27Glu, rs1042713 e rs1042714, respectivamente) *GHRL* (Leu72Met, rs696217) e *ADRB3* (Trp64Arg, rs4994) foram realizadas por meio de genotipagem TaqMan®. Para a identificação dos alelos presentes para cada indivíduo da amostra, foi utilizado o seguinte protocolo: preparo de dois mix de reação e posterior aplicação em diferentes poços, cada um com 2 μL de DNA. Cada amostra foi somada a: 4 μL de TaqMan Universal PCR Master Mix, 4,2 μL de água ultra-pura e 0,3 μL do primer SNP específico. O aparelho utilizado para este protocolo de genotipagem foi o modelo Step One Plus da marca *Applied Biosystems* foram utilizados os seguintes passos: 2 minutos a 50°C; 10 minutos a 95°C; repetir 45 vezes de 15 segundos a 95°C intercalados por 1 minuto a 62°C; 2 minutos a 60°C, o

chamado “End Point”. Na fase de pós-leitura, foi realizada a determinação do genótipo de cada indivíduo analisado e seu registro em um gráfico representativo gerado a partir da emissão de fluorescência da sonda marcada com fluoróforo VIC®, representando o alelo usual, e da sonda marcada com fluoróforo FAM®, capturando o alelo mutante. Amostras controle, previamente sequenciadas, representando cada possível genótipo (homozigoto usual, heterozigoto e homozigoto mutante) foram incluídas em cada reação para cada um dos quatro polimorfismos analisados. Para análise dos dados, foi considerado como modelo dominante heterozigoto + homozigoto mutante x homozigoto usual.

Análise estatística

Os dados sobre a participação das mulheres no estudo e suas características estão apresentados em nível categórico, e foram analisadas por estatística descritiva, apresentados na forma de frequência absoluta e relativa. Para verificar a conformidade com os valores de referência, a variável antropométrica e as bioquímicas foram dicotomizadas. Para a circunferência da cintura, como sim: ≤ 88 cm; e como não: > 88 cm (Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III), 2001); para perfil lipídico: como adequado, considerando os valores de referências para ótimo, desejável ou limítrofe; e como inadequado, considerando os valores de referência para alto ou muito alto (Xavier H. T., 2013b). Os dados contínuos foram avaliados para verificar a normalidade da distribuição pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Os dados não apresentaram distribuição normal, assim, foram utilizados testes estatísticos não-paramétricos. Para verificar diferenças das médias das participantes antes e após a intervenção, foi utilizado teste de Wilcoxon. Para avaliar a diferença de média entre portadoras e não portadoras na pré e na pós-intervenção, foi utilizado o teste U de Mann-Whitney. Para análise do efeito dos polimorfismos sobre a resposta da intervenção para redução de peso sobre a circunferência da cintura e perfil lipídico, inicialmente foram criadas variáveis a partir da diferença dos valores da circunferência da cintura e perfil lipídico no período da

intervenção (pós – pré). Foi identificada a mediana e criada uma variável de diferença para cada parâmetro, atribuindo 1 para valores maiores ou iguais a mediana da diferença e 0 para valores menores que esta mediana. Na sequência, foi utilizado teste de regressão logística *stepwise forward conditional* para identificar o efeito de cada polimorfismo sobre cada variável de diferença. Foi adotado o valor $<0,05$ como significativo. Foram criadas variáveis dummy para identificar o efeito um polimorfismo ou o efeito combinado de dois ou mais polimorfismo sobre os parâmetros bioquímicos. As análises foram rodadas no software SPSS para Windows versão 20.

RESULTADOS

Após o convite divulgado na mídia televisiva e rádio para participação do estudo, 380 mulheres compareceram à Universidade, e apesar de 77% terem sido consideradas elegíveis, pouco mais da metade, 52% das mulheres (n=200), iniciou o estudo de intervenção. A TABELA 1 apresenta a participação dos indivíduos no estudo, da triagem ao término.

TABELA 1 - Participação das adultas obesas na triagem, no início e na conclusão do estudo com os polimorfismos Arg16Gly e Gln27Glu do gene *ADRB2*; Trp64Arg do gene *ADRB3* e *Leu72Met* do gene *GHRL* e intervenção dietética para redução de peso em Curitiba - Brasil, 2011.

PARTICIPAÇÃO E TEMPO DO ESTUDO	N	%
Compareceram à triagem	380	100
Não elegíveis	87	22,8
Elegíveis	293	100
Compareceram à coleta de dados (pré-intervenção)	208	70,9
Iniciaram a intervenção	200	68,2
Com coleta de dados de circunferência da cintura concluída	109	28,6
Com coleta de dados do perfil lipídico concluída	113	29,7

Em relação às características das mulheres participantes do estudo, a maior parte tinha entre 30 e 39 anos, era de alto nível socioeconômico, trabalhava e não estudava (TABELA 2).

TABELA 2 - Características das adultas obesas que concluíram o estudo com perfil lipídico, circunferência da cintura e polimorfismos Arg16Gly e Gln27Glu do gene *ADRB2*; Trp64Arg do gene *ADRB3* e Leu72Met do gene *GHRL* e intervenção dietética para redução de peso em Curitiba - Brasil, 2011.

CARACTERÍSTICAS	N	%	% MISSING
Idade (anos)			
20-29	17	15,5	9,1
30-39	50	45,5	
40-49	36	32,7	
≥50	7	6,4	
Nível socioeconômico ^a			
Alto	65	59,1	9,1
Médio e baixo	45	40,9	
Emprego remunerado			
Não	29	29,3	18,2
Sim	70	70,7	
Estudante			
Não	78	80,4	19,8
Sim	19	19,6	

^aalto nível socioeconômico-categorias A e B; médio ou baixo - categorias C, D e E (ABEP).

A frequência alélica e a frequência das portadoras e não-portadoras dos polimorfismos estudados estão apresentadas respectivamente nas TABELAS 3 e 4. As distribuições dos genótipos estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg para os quatro polimorfismos.

TABELA 3 - Frequência alélica dos polimorfismos Arg16Gly e Gln27Glu do gene *ADRB2*; Trp64Arg do gene *ADRB3* e Leu72Met do gene *GHRL* das adultas obesas participantes do estudo de intervenção dietética para a perda de peso em Curitiba, Brasil, 2011.

Gene e Polimorfismo	n	Frequência do alelo ± Erro padrão
<i>ADRB2</i>		
Polimorfismo Arg16Gly (n=139)		
Arg	120	0,432± 0,03
Gly	158	0,568± 0,03
Polimorfismo Gln27Glu (n=136)		
Gln	193	0,710± 0,02
Glu	79	0,290± 0,02
<i>ADRB3</i>		
Polimorfismo Trp64Arg (n=131)		
Trp	229	0,874± 0,01
Arg	33	0,126± 0,01
<i>GHRL</i>		
Polimorfismo Leu72Met (n=133)		
Leu	227	0,853± 0,01
Met	39	0,147± 0,01

Em relação à frequência das portadoras e não-portadoras dos polimorfismos estudados (TABELA 4), o mais prevalente entre as participantes foi o Arg16Gly do gene *ADRB2* foi (80,8%), seguido do Gln27Glu do mesmo gene (45,3%). Os polimorfismos Trp64Arg do gene *ADRB3* e o Leu72Met do gene *GHRL* apresentaram menor prevalência entre as participantes do estudo.

TABELA 4 - Frequência das portadoras e não-portadoras dos polimorfismos Arg16Gly (n=120) e Gln27Glu (n=117) do gene *ADRB2*; Trp64Arg (n=111) do gene *ADRB3* e Leu72Met (n=114) do gene *GHRL* das adultas obesas participantes do estudo para redução de peso em Curitiba - Brasil, 2011.

GENE	N	%	% MISSING
<i>ADRB2</i>			
Polimorfismo Arg16Gly			0,8
Não-portadora ^a	23	19,2	
Portadora ^b	97	80,8	
Polimorfismo Gln27Glu			3,3
Não-portadora ^a	64	54,7	
Portadora ^b	53	45,3	
<i>ADRB3</i>			
Polimorfismo Trp64Arg			8,3
Não-portadora ^a	87	78,4	
Portadora ^b	24	21,6	
<i>GHRL</i>			
Polimorfismo Leu72Met			5,8
Não-portadora ^a	84	73,7	
Portadora ^b	30	26,3	

^a Arg/Arg; ^bArg/Gly; ^bGly/Gly; ^aGln/Gln; ^bGln/Glu; ^bGlu/Glu; ^aTrp/Trp; ^bTrp/Arg; ^bArg/Arg e ^aLeu/Leu; ^bLeu/Met; ^bMet/Met

Considerando todas as participantes independente do genótipo (TABELA 5), observa-se que, em relação à circunferência da cintura, a maior parte estava acima dos valores de referência, 82,6% na pré-intervenção e 63,3% após, ainda que este parâmetro tenha reduzido significativamente após a intervenção ($p < 0,001$). Quanto ao perfil lipídico, a maior parte das participantes se apresentou dentro dos valores de referência para todos os parâmetros, sendo que após a intervenção, houve redução significativa do colesterol ($p = 0,003$), e também do HDL-C ($p < 0,001$).

TABELA 5 - Dados de adiposidade abdominal (n=109) e do perfil lipídico (n=113) das mulheres obesas participantes do estudo para redução de peso em Curitiba - Brasil, 2011.

ADEQUAÇÃO À REFERÊNCIA N (%)					
PARÂMETRO	Pré-intervenção		Pós-intervenção		p
	Inadequado	Adequado ^b	Inadequado	Adequado ^b	
Circunferência cintura (cm)	90 (82,6)	19 (17,4)	69 (63,3)	40 (36,7)	<0,001 ^a
Colesterol (mg/dL)	13 (11,5)	100 (88,5)	5 (4,4)	108 (95,6)	0,003 ^a
Triglicérides (mg/dL)	15 (13,3)	98 (86,7)	19 (16,8)	94 (83,2)	0,906
Colesterol da HDL (mg/dL)	11 (9,7)	102 (90,3)	27 (23,9)	86 (76,1)	<0,001 ^a
Colesterol da LDL (mg/dL)	11 (9,7)	102 (90,3)	4 (3,5)	109 (96,5)	0,189

^aP<0,05 com teste de Wilcoxon para média de diferença entre antes e após a intervenção dietética para a perda de peso; ^bParaperfil lipídico: adequado= ótimo, desejável ou limítrofe; inadequado= alto ou muito alto; LDL = lipoproteína de densidade baixa; HDL = lipoproteína de densidade alta

Na TABELA 6, quando se comparam as médias da circunferência da cintura e do perfil lipídico antes e após a intervenção, estratificando por grupo de portadoras e de não-portadoras dos polimorfismos estudados, observa-se que a diferença significativa dos valores permaneceu para a circunferência da cintura e para o HDL-C para as portadoras e não-portadoras de todos os polimorfismos. Em relação ao colesterol, a redução foi significativa para as portadoras dos polimorfismos do gene *ADRB2*, para as portadoras e não portadoras do polimorfismo do gene *ADRB3* e somente para as não-portadoras do polimorfismos do gene *GHRL*.

TABELA 6 - Circunferência da cintura e dados bioquímicos de não-portadoras e portadoras dos polimorfismos Arg16Gly e Gln27Glu do gene *ADRB2*; Trp64Arg do gene *ADRB3* e Leu72Met do gene *GHRL* de adultas obesas antes e após a intervenção dietética para perda de peso Curitiba, Brasil, 2011.

	PRÉ-INTERVENÇÃO						PÓS-INTERVENÇÃO									
	Não-portadoras			Portadoras			Não-portadoras			Portadoras			Não-portadoras		Portadoras	
Gene <i>ADBR2</i>																
Polimorfismo Arg16Gly	N	Média	SD	N	Média	SD	N	Média	SD	N	Média	SD	Diferença	p	Diferença	p
Circunferência cintura (cm)	22	97,0	9,2	86	97,2	9,5	22	93,4	10,6	86	93,2	11,4	-3,5	0,005 ^a	-4,0	<0,001 ^a
Colesterol (mg/dL)	20	193,6	41,5	93	193,3	36,7	20	189,2	35,9	93	188,0	34,6	-4,4	0,140	-5,3	0,015 ^a
Triglicérides (mg/dL)	20	112,0	42,5	92	146,8	65,4	20	118,6	61,4	92	150,0	77,7	6,6	0,455	3,2	0,789
Colesterol da HDL (mg/dL)	20	52,0	11,2	92	52,4	13,0	20	47,6	11,2	92	47,9	11,0	-4,5	0,004 ^a	-4,5	<0,001 ^a
Colesterol da LDL (mg/dL)	20	118,7	33,7	92	111,3	29,2	20	117,5	32,8	92	109,6	27,9	-1,3	0,513	-1,6	0,219
Polimorfismo Gln27Glu																
Circunferência cintura (cm)	55	98,9	10,4	50	95,2	8,1	55	95,4	12,3	50	90,7	9,2	-3,6	<0,001 ^a	-4,5	<0,001 ^a
Colesterol (mg/dL)	60	196,6	38,1	51	188,0	37,1	60	192,8	35,4	51	181,8	33,6	-3,8	0,079	-6,2	0,046 ^a
Triglicérides (mg/dL)	59	133,6	50,2	51	149,6	76,4	59	137,4	58,0	51	151,7	92,8	3,8	0,651	2,1	0,487
Colesterol da HDL (mg/dL)	59	53,8	14,1	51	50,1	10,3	59	48,7	11,4	51	46,3	9,9	-5,1	<0,001 ^a	-3,9	<0,001 ^a
Colesterol da LDL (mg/dL)	59	115,8	30,4	51	107,8	30,1	59	116,1	30,1	51	104,8	26,9	0,3	0,856	-2,9	0,156
Gene <i>ADBR3</i>																
Polimorfismo Trp64Arg																
Circunferência cintura (cm)	77	97,7	9,7	23	94,6	9,1	77	94,2	11,6	23	89,6	10,3	-3,6	<0,001 ^a	-5,0	<0,001 ^a
Colesterol (mg/dL)	80	191,9	38,2	24	191,2	34,9	80	187,0	36,6	24	185,0	30,7	-4,9	0,047 ^a	-6,2	0,026 ^a
Triglicérides (mg/dL)	79	142,2	68,7	24	134,0	49,4	79	145,1	80,8	24	134,5	60,8	2,9	0,941	0,4	0,568
Colesterol da HDL (mg/dL)	79	51,2	11,4	24	56,0	16,0	79	46,8	10,6	24	51,0	13,0	-4,4	<0,001 ^a	-5,0	0,007 ^a
Colesterol da LDL (mg/dL)	79	112,1	32,1	24	108,0	22,3	79	110,7	31,3	24	106,8	21,1	-1,4	0,394	-1,2	0,383
Gene <i>GHRL</i>																
Polimorfismo Leu72Met																
Circunferência cintura (cm)	75	96,9	9,4	28	96,7	8,9	75	92,5	11,0	28	94,5	11,7	-4,3	<0,001 ^a	-2,2	0,005 ^a
Colesterol (mg/dL)	78	190,3	36,6	29	194,9	39,4	78	182,9	33,4	29	195,4	36,9	-7,3	0,002 ^a	0,5	0,846
Triglicérides (mg/dL)	77	135,9	55,7	29	151,9	82,5	77	137,6	73,6	29	160,6	85,6	1,7	0,648	8,7	0,523
Colesterol da HDL (mg/dL)	77	52,6	13,0	29	51,6	12,0	77	47,9	11,8	29	47,6	9,2	-4,7	<0,001 ^a	-4,0	0,003 ^a
Colesterol da LDL (mg/dL)	77	110,1	28,8	29	112,9	34,0	77	107,0	26,4	29	115,3	34,6	-3,1	0,082	2,3	0,863

^aP<0,05 com teste de Wilcoxon para média de diferença entre antes e após a intervenção dietética para a perda de peso; LDL = lipoproteína de densidade baixa; HDL = lipoproteína de densidade alta.

Em relação à comparação das médias entre os grupos (portadoras x não-portadoras) na pré-intervenção e na pós-intervenção, somente as diferenças entre as portadoras e não-portadoras do polimorfismo Arg16Gly para os triglicérides na pré ($p=0,014$) e na pós-intervenção ($p=0,018$) foram significantes. Porém, não foi observado efeito do polimorfismo Arg16Gly sobre a resposta dos triglicérides a partir da intervenção, e para nenhum outro polimorfismo ou parâmetro também. Também não foi identificado efeito individual ou combinado dos polimorfismos sobre os parâmetros estudados, assim, os resultados não são apresentados.

DISCUSSÃO

No presente estudo, a maior parte das participantes da intervenção dietética trabalhava e não estudava. Quanto ao nível socioeconômico, a maior parte era de alto nível, sendo esta participação coerente, pois pessoas com melhor condição financeira e educacional, tendem a ter uma dieta com melhor qualidade (Darmon and Drewnowski, 2008).

Em relação à resposta à restrição calórica por meio da intervenção dietética no período de sete semanas, considerando os dados longitudinais, não apresentou diferença entre as portadoras e não-portadoras dos polimorfismos Arg16Gly e Gln27Glu do gene *ADRB2*; Trp64Arg do gene *ADRB3* e Leu72Met do gene *GHRL* para a circunferência da cintura, colesterol, HDL-C, LDL-C, e triglicérides plasmáticos. A presença ou ausência destes polimorfismos não teve efeito sobre as respostas dos parâmetros estudados, apesar de alguns parâmetros terem reduzido ou apresentado diferença quando comparados entre as portadoras e as não-portadoras.

As reduções encontradas, após a intervenção dietética, foram para a circunferência da cintura, para o colesterol e para o HDL-C para todas as participantes. Porém, quando considerado portadoras e não-portadoras dos polimorfismos estudados, ainda considerando os dados longitudinais, a diferença se manteve para todas para a circunferência da cintura e para o HDL-C, mas não para colesterol. A diferença significativa permaneceu para as portadoras dos

polimorfismos Arg16Gly e Gln27Glu e para as não-portadoras do Leu72Met as quais apresentaram uma redução maior. Este resultados sugerem um possível efeito dos polimorfismos Arg16Gly, Gln27Glu e Leu72Met sobre a resposta do colesterol.

Em relação ao efeito dos polimorfismos sobre os parâmetros do perfil lipídico, a comparação dos dados transversais, ou seja na pré e na pós- intervenção, entre portadoras e não-portadoras, apontou uma diferença para as portadoras do polimorfismo Arg16Gly, onde foi identificado que as portadoras apresentaram média maior de triglicérides. Este achado aponta uma possível relação deste polimorfismo com o metabolismo lipídico.

Os receptores ADRB2, ADRB3 e a grelina são importantes para a regulação de energia. Os receptores ADRB2 e ADRB3 estão relacionados à lipólise e polimorfismos destes genes podem causar diferenças no gasto energético (Takenaka *et al.*, 2012). A grelina é única na sua capacidade de aumentar a ingestão alimentar e é vista como moduladora central da homeostase energética (Castaneda *et al.*, 2010). Assim, polimorfismos dos genes da *ADRB2* e *ADRB3* (Arg16Gly, Gln27Glu e Trp64Arg, respectivamente) e da *GHRL* (Leu72Met) e parâmetros do metabolismo tem sido investigados.

Em relação ao polimorfismo Arg16Gly e a circunferência da cintura foi encontrado correlação no estudo realizado por Daghestani *et al.* (2012), porém no estudo de Mattevi *et al.* (2006) foi encontrado associação com maior circunferência da cintura somente para homens e Lange *et al.* (2005), de acordo com os resultados do presente estudo, não encontrou associação com nenhuma medida de adiposidade. Em relação ao polimorfismo Gln27Glu e a circunferência da cintura, neste mesmo estudo (Lange *et al.*, 2005), os autores identificaram associação positiva com tecido adiposo visceral, diferente de Mattevi *et al.* (2006), que não encontraram associação, corroborando os resultados do presente estudo. Em relação o polimorfismo Arg16Gly e lipídios plasmáticos, foi encontrado correlação entre HDL-C, LDL-C, triglicérides e colesterol (Daghestani *et al.*, 2012), diferente dos resultados do presente estudo, entretanto, em relação ao polimorfismo Gln27Glu e lipídios plasmáticos, em um estudo investigando a relação entre eles, nenhuma

diferença significativa foi encontrada (Kawamura *et al.*, 2001), sendo este resultado convergente com o do presente estudo.

Em relação ao polimorfismo Trp64Arg do gene *ADRB3*, a falta de consistência também é observada. Alguns estudos identificaram associação entre este polimorfismo e a circunferência da cintura (Mirrakhimov *et al.*, 2011), sendo identificado valores mais altos de circunferência da cintura para portadores (de Luis *et al.*, 2008). Contudo, em outros estudos, um deles realizado no Brasil (Mattevi *et al.*, 2006), não foi encontrada associação com este polimorfismo e a circunferência da cintura, resultados estes de acordo com o do presente estudo, e nem diferenças significantes na circunferência da cintura para portadoras (Shiwaku *et al.*, 2003). Em relação aos lipídios plasmáticos, foi encontrada associação entre este polimorfismo e HDL-C, LDL-C e CT somente para homens (Corella *et al.*, 2001).

O polimorfismo Leu72Met do gene *GHRL* também apresenta falta de consistência entre os resultados. Em relação à circunferência da cintura, Robitaille *et al.* (2007) identificaram a interação deste polimorfismo com os valores da circunferência da cintura, mas, em concordância com o presente estudo, não foram identificadas diferenças nas médias destes valores entre portadoras e não-portadoras deste polimorfismo (Steinle *et al.*, 2005). Também não foi encontrada associação deste polimorfismo com a circunferência da cintura (Poykko *et al.*, 2003; Ando *et al.*, 2007; Garcia *et al.*, 2009), convergendo com os resultados do presente estudo. Quanto aos lipídios plasmáticos, foi encontrada associação do Leu72Met com valores mais baixos de HDL-C e mais altos de triglicérides (Steinle *et al.*, 2005); (Robitaille *et al.*, 2007). Entretanto, em outros estudos, não foi encontrada diferença significativa para HDL-C, LDL-C e colesterol (Poykko *et al.*, 2003; Ando *et al.*, 2007), nem diferença significativa entre as médias de colesterol de portadoras e não-portadoras deste polimorfismo (Steinle *et al.*, 2005), em concordância com os resultados do presente estudo.

Os resultados encontrados neste estudo, em sua maioria, não estão de acordo com as associações encontradas na literatura. Entretanto, a comparação é um pouco limitada, pois a maior parte dos estudos é observacional. Além disso, o número de participantes pode limitar o poder da amostra, assim os resultados

encontrados podem ter sido influenciados por este fator. Outro ponto a ser considerado é em relação às medidas da circunferência da cintura e bioquímicas. Medições antropométricas estão sujeitas a algum grau de erro de medida (Lee and Gallagher, 2008) e medidas bioquímicas podem sofrer variações intraindividuais em função da variação analítica (Xavier H. T., 2013b). Outras questão a ser considerada é a possibilidade de estas respostas dependerem de outros genes atuando em conjunto, com efeito adicional (Daghestani *et al.*, 2012).

Apesar do tamanho limitado da amostra, poucos estudos são desenhados especificamente para medir o efeito de polimorfismos sobre parâmetros antropométricos e bioquímicos em resposta à uma restrição calórica por meio de uma intervenção dietética para a redução de peso, especialmente em brasileiras, pois poucos estudos de nutrigenética foram realizados no país. Importante considerar também que a intervenção foi eficaz para a redução da circunferência da cintura e para o colesterol, em apenas sete semanas, ainda que tenha reduzido também o HDL-C. Esta redução, apesar de não ser um efeito desejado, ocorre em função da perda de peso e da composição da dieta para redução de peso (Bays *et al.*, 2013) e poderia ser minimizada com a inclusão de ácidos graxos monoinsaturados (Vannice and Rasmussen, 2014) ou um teor maior de proteínas e menor de carboidratos na dieta (Bays *et al.*, 2013).

Apesar dos avanços em relação aos estudos com genes e obesidade, mecanismos destas interações (Drong *et al.*, 2012), ainda é um desafio caracterizar a relação de causalidade dos genes com a obesidade, portanto, são necessárias novas abordagens de análise que auxiliem este processo (Xia and Grant, 2013). Marcadores específicos de vias metabólicas relacionadas à obesidade podem ser considerados nos desenhos de pesquisa (Bray, 2008), assim como, desenhos incluindo o medidas do ambiente alimentar obesogênico e o impacto sobre os indivíduos (Herrera *et al.*, 2011). Dentro deste contexto, é necessário considerar que a genética é somente um dos fatores individuais, os quais são afetados por níveis sociais, ambientais e sofrem influência das políticas também (Story *et al.*, 2008).

Em suma, neste estudo com adultas obesas participantes de uma restrição calórica por meio de uma intervenção dietética para redução de peso, não foi

identificado efeito dos polimorfismos Arg16Gly e Gln27Glu do gene *ADRB2*, Trp64Arg do gene *ADBR3* e Leu72Met do gene *GHRL* sobre a circunferência da cintura, colesterol, HDL-C, LDL-C e triglicérides. Entretanto, os polimorfismos Arg16Gly, Gln27Glu e Leu72Met parecem ter algum efeito sobre a resposta do colesterol, pois as portadoras do polimorfismo Arg16Gly e do Gln27Glu e as não-portadoras do Leu72Met tiveram média de redução maior para o colesterol. Ainda em relação ao Arg16Gly, as portadoras apresentaram média de triglicérides maior na pré e na pós-intervenção. Estes resultados sugerem que estes polimorfismos podem ter um papel no metabolismo lipídico. A intervenção reduziu significativamente a circunferência da cintura, e o colesterol, apesar de ter reduzido o HDL-C também. Este estudo contribui para os estudos de nutrigenética no Brasil e aponta que a nutrição independente do genótipo dos polimorfismos estudados auxilia no alcance dos resultados desejados.

Apoio e agradecimentos

O estudo teve apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) (0194/12-3). Agradecimentos à todas as participantes do estudo, aos alunos de graduação e demais participantes que colaboraram na coleta de dados.

REFERÊNCIAS

- (2001). "Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III)." JAMA **285**(19): 2486-2497.
- Abete, I., S. Navas-Carretero, et al. (2012). "Nutrigenetics and nutrigenomics of caloric restriction." Prog Mol Biol Transl Sci **108**: 323-346.
- Ando, T., Y. Ichimaru, et al. (2007). "Variations in the preproghrelin gene correlate with higher body mass index, fat mass, and body dissatisfaction in young Japanese women." Am J Clin Nutr **86**(1): 25-32.
- Andreasen, C. H. and G. Andersen (2009). "Gene-environment interactions and obesity--further aspects of genomewide association studies." Nutrition **25**(10): 998-1003.
- Bays, H. E., P. P. Toth, et al. (2013). "Obesity, adiposity, and dyslipidemia: a consensus statement from the National Lipid Association." J Clin Lipidol **7**(4): 304-383.
- Brasil. (2008). Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Guia alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável. Brasília: Ministério da Saúde. Brasília.
- Bray, M. S. (2008). "Implications of gene-behavior interactions: prevention and intervention for obesity." Obesity (Silver Spring) **16 Suppl 3**: S72-78.
- Castaneda, T. R., J. Tong, et al. (2010). "Ghrelin in the regulation of body weight and metabolism." Front Neuroendocrinol **31**(1): 44-60.
- Cheng, K. C., Y. X. Li, et al. (2010). "The role of ghrelin in energy homeostasis and its potential clinical relevance (Review)." Int J Mol Med **26**(6): 771-778.

Corella, D., M. Guillen, et al. (2001). "Gender specific associations of the Trp64Arg mutation in the beta3-adrenergic receptor gene with obesity-related phenotypes in a Mediterranean population: interaction with a common lipoprotein lipase gene variation." J Intern Med **250**(4): 348-360.

Daghestani, M. H., A. Warsy, et al. (2012). "Arginine 16 Glycine Polymorphism in beta2-Adrenergic Receptor Gene is Associated with Obesity, Hyperlipidemia, Hyperleptinemia, and Insulin Resistance in Saudis." Int J Endocrinol **2012**: 945608.

de Luis, D. A., R. Aller, et al. (2008). "Relation of Trp64Arg polymorphism of beta 3-adrenergic receptor gene to adipocytokines and fat distribution in obese patients." Ann Nutr Metab **52**(4): 267-271.

Drong, A. W., C. M. Lindgren, et al. (2012). "The genetic and epigenetic basis of type 2 diabetes and obesity." Clin Pharmacol Ther **92**(6): 707-715.

Garcia, E. A., P. King, et al. (2009). "The role of ghrelin and ghrelin-receptor gene variants and promoter activity in type 2 diabetes." Eur J Endocrinol **161**(2): 307-315.

Herrera, B. M., S. Keildson, et al. (2011). "Genetics and epigenetics of obesity." Maturitas **69**(1): 41-49.

Kawamura, T., G. Egusa, et al. (2001). "Gln27Glu variant of the beta2-adrenergic receptor gene is not associated with obesity and diabetes in Japanese-Americans." Metabolism **50**(4): 443-446.

Kojima, M. and K. Kangawa (2005). "Ghrelin: structure and function." Physiol Rev **85**(2): 495-522.

Kurokawa, N., E. H. Young, et al. (2008). "The ADRB3 Trp64Arg variant and BMI: a meta-analysis of 44 833 individuals." Int J Obes (Lond) **32**(8): 1240-1249

Lahiri, D. K. and J. I. Nurnberger, Jr. (1991). "A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies." Nucleic Acids Res **19**(19): 5444.

Lange, L. A., J. M. Norris, et al. (2005). "Association of adipose tissue deposition and beta-2 adrenergic receptor variants: the IRAS family study." Int J Obes (Lond) **29**(5): 449-457.

Lee, S. Y. and D. Gallagher (2008). "Assessment methods in human body composition." Curr Opin Clin Nutr Metab Care **11**(5): 566-572.

Loos, R. J. (2012). "Genetic determinants of common obesity and their value in prediction." Best Pract Res Clin Endocrinol Metab **26**(2): 211-226.

Mattevi, V. S., V. M. Zembrzuski, et al. (2006). "Impact of variation in ADRB2, ADRB3, and GNB3 genes on body mass index and waist circumference in a Brazilian population." Am J Hum Biol **18**(2): 182-186.

Mirрахimov, A. E., A. S. Kerimkulova, et al. (2011). "An association between TRP64ARG polymorphism of the B3 adrenoreceptor gene and some metabolic disturbances." Cardiovasc Diabetol **10**: 89.

NICE (2006). "Obesity: the prevention, identification, assessment and management of overweight and obesity in adults and children. National Institute for Health and Clinical Excellence." NICE clinical guideline. **43**.

Poykko, S. M., E. Kellokoski, et al. (2003). "Low plasma ghrelin is associated with insulin resistance, hypertension, and the prevalence of type 2 diabetes." Diabetes **52**(10): 2546-2553.

Robitaille, J., L. Perusse, et al. (2007). "Genes, fat intake, and cardiovascular disease risk factors in the Quebec Family Study." Obesity (Silver Spring) **15**(9): 2336-2347.

Schmidt, M. I., B. B. Duncan, et al. (2011). "Chronic non-communicable diseases in Brazil: burden and current challenges." Lancet **377**(9781): 1949-1961.

Scofield, M. A., J. D. Deupree, et al. (2002). "Adrenergic receptor genes: cDNA and genomic library construction." Mol Biotechnol **21**(2): 171-197.

Seagle, H. M., G. W. Strain, et al. (2009). "Position of the American Dietetic Association: weight management." J Am Diet Assoc **109**(2): 330-346.

Shiwaku, K., A. Nogi, et al. (2003). "Difficulty in losing weight by behavioral intervention for women with Trp64Arg polymorphism of the beta3-adrenergic receptor gene." Int J Obes Relat Metab Disord **27**(9): 1028-1036.

Steinle, N. I., T. I. Pollin, et al. (2005). "Variants in the ghrelin gene are associated with metabolic syndrome in the Old Order Amish." J Clin Endocrinol Metab **90**(12): 6672-6677.

Story, M., K. M. Kaphingst, et al. (2008). "Creating healthy food and eating environments: policy and environmental approaches." Annu Rev Public Health **29**: 253-272.

Swinburn, B. A., G. Sacks, et al. (2011). "The global obesity pandemic: shaped by global drivers and local environments." Lancet **378**(9793): 804-814.

Takenaka, A., S. Nakamura, et al. (2012). "Human-specific SNP in obesity genes, adrenergic receptor beta2 (ADRB2), Beta3 (ADRB3), and PPAR gamma2 (PPARG), during primate evolution." PLoS One **7**(8): e43461.

Ukkola, O. (2011). "Genetic variants of ghrelin in metabolic disorders." Peptides **32**(11): 2319-2322.

Ukkola, O., E. Ravussin, et al. (2002). "Role of ghrelin polymorphisms in obesity based on three different studies." Obes Res **10**(8): 782-791.

Vannice, G. and H. Rasmussen (2014). "Position of the academy of nutrition and dietetics: dietary fatty acids for healthy adults." J Acad Nutr Diet **114**(1): 136-153.

Xavier H. T., I. M. C., Faria Neto J. R., Assad M. H., Rocha V. Z., Sposito A. C., Fonseca F. A., dos Santos J. E., Santos R. D., Bertolami M. C., Faludi A. A., Martinez T. L. R., Diament J., Guimarães A., Forti N. A., Moriguchi E., Chagas A. C. P., Coelho O. R., Ramires J. A. F. (2013). "V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose." Arq. Bras. Cardiol. **v. 101**(n. 4, supl. 1).

Xia, Q. and S. F. Grant (2013). "The genetics of human obesity." Ann N Y Acad Sci **1281**: 178-190.

6 DISCUSSÃO

6.1 EFEITO DA INTERVENÇÃO DIETÉTICA PARA PERDA DE PESO

Em relação ao efeito da intervenção dietética para perda de peso, o protocolo desenvolvido para este estudo, independente do genótipo das participantes, reduziu o IMC, a circunferência da cintura, o colesterol e o HDL-C no período de sete semanas. O protocolo desenvolvido especificamente para este estudo para a redução de peso foi adaptado a partir de um estudo sobre obesidade e genética (<http://www.nugenob.org>), mas teve a vantagem de incluir as orientações de alimentação para a população brasileira (Brasil., 2008) e as evidências científicas propostas para o controle de peso (Seagle *et al.*, 2009). A redução do HDL-C após a intervenção, apesar de não ser um efeito desejado, ocorre em função da perda de peso e da composição da dieta para redução de peso (Bays *et al.*, 2013). Dietas com teor mais alto de carboidratos e mais baixo de lipídios, podem induzir a redução do HDL-C, dietas com teor mais alto de proteínas e mais baixo de carboidratos podem manter ou aumentar o HDL-C (Bays *et al.*, 2013). A inclusão de ácidos graxos monoinsaturados na dieta para redução de peso pode minimizar este efeito indesejado, pois quando comparados ao carboidrato, estes ácidos graxos aumentam o HDL-C (Vannice and Rasmussen, 2014).

6.2 EFEITO DOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS ESTUDADOS

No presente estudo, os polimorfismos Arg16Gly e Gln27Glu do gene *ADRB2*; do Trp64Arg do gene *ADRB3* e do Leu72Met do gene *GHRL* não apresentaram efeito sobre os parâmetros antropométricos e bioquímicos em resposta à uma restrição calórica por meio de uma intervenção dietética realizada com as adultas obesas. Em outras palavras, as portadoras dos polimorfismos não apresentaram diferença na resposta à intervenção dietética para a redução de peso sobre o IMC, circunferência da cintura, colesterol, colesterol da HDL, colesterol da LDL e triglicérides quando comparadas às não-portadoras.

Ainda considerando os dados longitudinais, apesar de na análise de regressão múltipla não ter sido identificado efeito significativo dos polimorfismos sobre os parâmetros investigados, os polimorfismos Arg16Gly, Gln27Glu e Leu72Met parecem ter algum efeito sobre a resposta do colesterol. Foi identificada diferença na média da redução do colesterol de portadoras e não-portadoras destes polimorfismos. A dieta hipocalórica reduziu o colesterol das participantes, mas quando separadas em grupos de portadoras e não-portadoras, a diferença significativa permaneceu para as portadoras dos polimorfismos Arg16Gly e Gln27Glu e para as não-portadoras do Leu72Met as quais apresentaram uma redução maior.

Em relação à análise transversal, a comparação dos parâmetros entre as portadoras e as não-portadoras dos polimorfismos apontou que as portadoras do Gln27Glu apresentaram média de IMC menor em comparação as não-portadoras, tanto antes quanto após a intervenção dietética para redução de peso. Outra diferença identificada foi em relação aos parâmetros bioquímicos. Ao avaliar a média destes valores para as portadoras e não-portadoras, antes e após a intervenção, foi identificado uma diferença significativa para os triglicérides entre as portadoras e não-portadoras do polimorfismo Arg16Gly nos dois momentos, sendo mais alta para as portadoras. Estes resultados sugerem uma possível influência dos polimorfismos do gene *ADRB2* sobre parâmetros de controle de peso e perfil lipídico.

Os receptores *ADRB2* e *ADRB3*, codificados pelos genes *ADRB2* e *ADRB3*, e a grelina, codificada pelo gene *GHRL*, tem papel importante na homeostase energética, pois estão relacionados à lipólise (Takenaka *et al.*, 2012) e ao controle alimentar (Castaneda *et al.*, 2010), respectivamente. Assim, estudos sobre obesidade e os polimorfismos dos genes *ADRB2* (Arg16Gly e Gln27Glu), *ADRB3* (Trp64Arg) e da *GHRL* (Leu72Met) tem sido realizados mas apresentado resultados contraditórios.

Em relação ao polimorfismo Arg16Gly do gene *ADRB2*, foi encontrada associação entre este polimorfismo e ganho de peso, circunferência da cintura (Daghestani *et al.*, 2012). No estudo de Mattevi *et al.* (2006), entretanto, foi encontrada associação com este polimorfismo, IMC e circunferência da cintura somente para homens. Outros estudos não encontraram interação significativa entre

este polimorfismo e mudanças no peso e na composição corporal (Lange *et al.*, 2005; Ruiz *et al.*, 2011). Em relação ao perfil lipídico, no estudo realizado por Daghestani *et al.* (2012) foi encontrada associação entre o polimorfismo Arg16Gly e valores mais altos de colesterol, HDL-C, LDL-C e triglicérides. Estes resultados concordam com os resultados do presente estudo, onde foi encontrada diferença significativa para as portadoras deste polimorfismo e os triglicérides, sendo a média maior quando comparada com as não-portadoras.

Para o polimorfismo Gln27Glu do gene *ADRB2* foi encontrada associação com maior deposição de gordura corporal e com IMC mais alto para os portadores (Lange *et al.*, 2005). Porém, no estudo de Ruiz *et al.* (2011) foi identificado que os portadores deste polimorfismo emagreceram mais, sendo este resultado coerente com os achados do presente estudo, em que as portadoras deste polimorfismo apresentaram IMC menor quando comparado ao das não-portadoras, sugerindo um papel no controle do peso para o alelo Glu27. Entretanto, em outro estudo não foi encontrada associação deste polimorfismo com obesidade, IMC e circunferência da cintura (Jalba *et al.*, 2008). Também não foi identificada diferença significativa para os lipídios plasmáticos entre portadores e não portadores (Kawamura *et al.*, 2001), sendo este resultado convergente com o do presente estudo, onde não foram encontradas diferenças entre portadoras e não-portadoras do Gln27Glu e estes parâmetros.

Quanto ao polimorfismo Trp64Arg do gene *ADRB3*, foram encontradas associações com IMC maior (Kadowaki *et al.*, 1995; de Luis *et al.*, 2008), com circunferência da cintura maior (de Luis *et al.*, 2008), e também com a dificuldade de perda de peso (Shiwaku *et al.*, 2003) para portadores. Entretanto, em um estudo realizado no Brasil, não foi identificada associação deste polimorfismo com o IMC ou com a circunferência da cintura (Mattevi *et al.*, 2006), e outro estudo também não identificou diferença significativa entre o IMC de portadoras e não-portadoras (Rawson *et al.*, 2002). Em relação aos lipídios plasmáticos, os resultados também divergem, pois foi encontrada associação entre este polimorfismo e HDL-C, LDL-C e CT somente para homens (Corella *et al.*, 2001) e não foi identificada diferença significativa entre portadores e não portadores deste polimorfismo com estes parâmetros bioquímicos (de Luis *et al.*, 2008). Os resultados de Rawson *et al.* (2002)

e os de de Luis *et al.* (2008) em relação ao IMC e aos parâmetros bioquímicos, respectivamente, estão de acordo com encontrados no presente estudo.

Estudos com o polimorfismo Leu72Met do gene *GHRL* também tem apresentado resultados discordantes. Anteriormente este polimorfismo foi associado ao início precoce da obesidade (Ukkola *et al.*, 2001a). Em estudos posteriores Robitaille *et al.* (2007) apontaram a interação deste polimorfismo com a circunferência da cintura; Ukkola *et al.* (2002), a partir de uma revisão de estudos, apontaram que o alelo Met72 estava associado com IMC mais baixo e Steinle *et al.* (2005) identificaram que o polimorfismo Leu72Met estava associado com HDL-C mais baixo e triglicérides mais altos. Entretanto em outros estudos, não foi identificada diferença significativa para IMC, circunferência da cintura (Poykko *et al.*, 2003), colesterol, HDL-C e LDL-C (Poykko *et al.*, 2003; Steinle *et al.*, 2005; Ando *et al.*, 2007). Em concordância com os estudos citados, no presente estudo, também não foram encontradas associações significantes deste polimorfismo com parâmetros antropométricos. Entre os bioquímicos, diferente dos resultados apontados, a diferença média do colesterol antes e após a intervenção neste estudo foi significativa, sendo maior para as não-portadoras.

Algumas considerações devem ser feitas, pois os diferentes desenhos dos estudos realizados com os polimorfismos, assim como diferenças nas frequências alélicas das populações (Ukkola, 2011), dificultam a comparação com os resultados desta intervenção. Além disso, o número de participantes, o período curto de intervenção dietética e variações inerentes às medições antropométricas e bioquímicas (Lee and Gallagher, 2008; Xavier H. T., 2013b) podem ter influenciado os resultados. Além disso, no presente estudo foram investigados três genes previamente associados à obesidade, sendo a susceptibilidade à esta doença determinada não somente pela combinação de fatores relacionados ao genes, mas também reflexo de fatores ambientais (Loos, 2012).

Ainda que o objetivo seja identificar a combinação de genes e polimorfismo que estão associados com um risco maior de desenvolver obesidade (Rankinen *et al.*, 2006), a compreensão sobre os mecanismos que direcionam estas interações não é completa (Drong *et al.*, 2012). Assim, estudos funcionais que testem a

causalidade dos genes e seu papel na obesidade são necessários (Xia and Grant, 2013). Neste sentido, este estudo colaborou, pois testou a resposta à uma intervenção desenhada especificamente para a redução de peso sobre parâmetros antropométricos e bioquímicos relacionados à obesidade.

Para auxiliar a compreender as interações que envolvem a regulação da obesidade e identificar as causas genéticas relacionadas, novas abordagens de análise são necessárias (Xia and Grant, 2013). Como exemplo, pode-se avaliar a resposta de biomarcadores a desafios fisiológicos em indivíduos susceptíveis à doença em relação aos não-susceptíveis e verificar se há diferença (Hendriks, 2013). Este conceito de utilizar os desafios fisiológicos é utilizado no teste oral de tolerância à glicose para avaliar a resposta metabólica e auxiliar no diagnóstico de diabetes tipo 2 (Hendriks, 2013). Assim, identificar marcadores específicos de vias metabólicas relacionadas à obesidade podem auxiliar neste processo (Bray, 2008). Também para ampliar a compreensão da regulação da obesidade e papel dos genes, pode-se utilizar o perfil genético, proteico e metabólico, usando as novas tecnologias disponíveis e modelos de análise emergentes (Chen *et al.*, 2012; Camp and Trujillo, 2014), pois estes facilitam a descrição e a precisão dos processos moleculares envolvidos, permitindo que mudanças sutis induzidas pela nutrição sejam captadas (Hendriks, 2013).

Finalmente, é importante lembrar que a obesidade não está relacionada somente aos genes, mas também as mudanças no estilo de vida e ambiente, sendo que estes fatores geram diferentes efeitos sobre diferentes indivíduos (Herrera *et al.*, 2011). Entre estes elementos, está o consumo alimentar, o qual é afetado por diferentes influências, pelos genes, os quais representam uma parte do nível individual, em conjunto com os ambientes sociais, físicos e a organização da sociedade (Story *et al.*, 2008). Assim, desenhos de pesquisa que incluam diferentes níveis que afetam o indivíduo, com novas tecnologias para o estudo dos genes (Hendriks, 2013), e que sejam realizados em diferentes populações (Ukkola, 2011) podem auxiliar a compreensão da relação dos genes e obesidade, ainda que permaneça o desafio de validar e traduzir os achados da pesquisa em nutrigenética para a abordagem individualizada e em saúde pública na prevenção de doenças metabólicas (Phillips, 2013).

7 CONCLUSÃO

Este estudo foi desenvolvido especificamente para observar a resposta de uma restrição calórica por meio de uma intervenção dietética para a redução de peso em mulheres adultas obesas portadoras e não-portadoras de polimorfismos genéticos sobre parâmetros antropométricos e o perfil lipídico.

Em relação ao efeito longitudinal da intervenção dietética, os polimorfismos Arg16Gly e Gln27Glu do gene *ADRB2*; o Trp64Arg do gene *ADRB3* e o Leu72Met do gene *GHRL* não influenciaram as respostas sobre os parâmetros antropométricos, IMC e circunferência da cintura, nem sobre os parâmetros bioquímicos investigados, colesterol, colesterol da HDL, colesterol da LDL e triglicérides. No presente estudo as adultas obesas portadoras e não-portadoras dos polimorfismos estudados não apresentaram resposta diferente à restrição calórica sobre os parâmetros antropométricos e sobre o perfil lipídico. Entretanto, os polimorfismos Arg16Gly, Gln27Glu e Leu72Met parecem ter algum efeito sobre a resposta do colesterol, pois as portadoras do Arg16Gly e do Gln27Glu e as não-portadoras do polimorfismo Leu72Met apresentaram maior média de redução para o colesterol.

Em relação ao efeito transversal dos polimorfismos sobre os parâmetros antropométricos e o perfil lipídico, a comparação entre portadoras e não-portadoras, apontou uma diferença para as portadoras do polimorfismo Gln27Glu, onde a média do IMC foi menor antes e após a intervenção. Também em relação ao polimorfismo Arg16Gly, foi identificado que as portadoras apresentaram média maior de triglicérides antes e após a intervenção. Estes achados sugerem papel destes polimorfismos no controle do peso e metabolismo lipídico, respectivamente.

Em relação ao efeito da intervenção dietética para perda de peso, o protocolo desenvolvido para este estudo, reduziu o IMC, a circunferência da cintura, o colesterol e o HDL-C no período de sete semanas. Apesar do efeito indesejado da redução do HDL-C, o manejo dietético na composição dos nutrientes da dieta, maior teor de proteína e menor de carboidratos ou a inclusão de ácidos graxos monoinsaturados podem auxiliar a minimizar este efeito.

Este estudo contribui para a compreensão da relação entre genes associados ao metabolismo e à nutrição, colaborando para a construção do conhecimentos na área de nutrigenética.

REFERÊNCIAS

- Abete I., Navas-Carretero S., Marti A., Martinez J. A. Nutrigenetics and nutrigenomics of caloric restriction. **Progress in molecular biology and translational science** v.108, p.323-346, 2012.
- Afman L., Muller M. Nutrigenomics: from molecular nutrition to prevention of disease. **J Am Diet Assoc** v.106, p.569-576, 2006.
- Alcantara V. M., Oliveira L. C., Rea R. R., Suplicy H. L., Chautard-Freire-Maia E. A. Butyrylcholinesterase and obesity in individuals with the CHE2 C5+ and CHE2 C5- phenotypes. **Int J Obes Relat Metab Disord** v.27, p.1557-1564, 2003.
- Alimentação. U. E. d. C. N. d. E. e. P. e. Tabela brasileira de composição de alimentos. Versão II. . 2a. edn. Unicamp., Campinas, 2006.
- ALMEIDA J. C. d. e. a. Revisão sistemática de dietas de emagrecimento: papel dos componentes dietéticos. . **Arq Bras Endocrinol Metabol** v.53, 2009.
- Ando T., Ichimaru Y., Konjiki F., Shoji M., Komaki G. Variations in the preproghrelin gene correlate with higher body mass index, fat mass, and body dissatisfaction in young Japanese women. **Am J Clin Nutr** v.86, p.25-32, 2007.
- Andreasen C. H., Andersen G. Gene-environment interactions and obesity--further aspects of genomewide association studies. **Nutrition** v.25, p.998-1003, 2009.
- Antillon D., Towfighi A. No time to 'weight': the link between obesity and stroke in women. **Womens Health (Lond Engl)** v.7, p.453-463, 2011.
- Arner P., Hoffstedt J. Adrenoceptor genes in human obesity. **J Intern Med** v.245, p.667-672, 1999.

Avenell A., Sattar N., Lean M. ABC of obesity. Management: Part I--behaviour change, diet, and activity. **BMJ** v.333, p.740-743, 2006.

Barr S. I. Introduction to dietary reference intakes. **Applied physiology, nutrition, and metabolism. Physiologie appliquee, nutrition et metabolisme** v.31, p.61-65, 2006.

Bays H. E., Toth P. P., Kris-Etherton P. M., Abate N., Aronne L. J., Brown W. V., Gonzalez-Campoy J. M., Jones S. R., Kumar R., La Forge R., Samuel V. T. Obesity, adiposity, and dyslipidemia: a consensus statement from the National Lipid Association. **Journal of clinical lipidology** v.7, p.304-383, 2013.

Bea J. W., Lohman T. G., Cussler E. C., Going S. B., Thompson P. A. Lifestyle modifies the relationship between body composition and adrenergic receptor genetic polymorphisms, ADRB2, ADRB3 and ADRA2B: a secondary analysis of a randomized controlled trial of physical activity among postmenopausal women. **Behav Genet** v.40, p.649-659, 2010.

Berthold H. K., Giannakidou E., Krone W., Mantzoros C. S., Gouni-Berthold I. The Leu72Met polymorphism of the ghrelin gene is associated with a decreased risk for type 2 diabetes. **Clin Chim Acta** v.399, p.112-116, 2009.

Blundell J. E. Perspective on the central control of appetite. **Obesity (Silver Spring)** v.14 Suppl 4, p.160S-163S, 2006.

Booth S. L., Sallis J. F., Ritenbaugh C., Hill J. O., Birch L. L., Frank L. D., Glanz K., Himmelgreen D. A., Mudd M., Popkin B. M., Rickard K. A., St Jeor S., Hays N. P. Environmental and societal factors affect food choice and physical activity: rationale, influences, and leverage points. **Nutr Rev** v.59, p.S21-39; discussion S57-65, 2001.

Bouchard C. Gene-environment interactions in the etiology of obesity: defining the fundamentals. **Obesity (Silver Spring)** v.16 Suppl 3, p.S5-S10, 2008.

Bouchard C., Agurs-Collins T. Studying gene-behavior interactions: summary of recommendations. **Obesity (Silver Spring)** v.16 Suppl 3, p.S95-96, 2008.

Brasil. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Guia alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável. Brasília: Ministério da Saúde. Brasília, 2008.

Bray G. A., Nielsen S. J., Popkin B. M. Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity. **Am J Clin Nutr** v.79, p.537-543, 2004.

Bray M. S. Implications of gene-behavior interactions: prevention and intervention for obesity. **Obesity (Silver Spring)** v.16 Suppl 3, p.S72-78, 2008.

Camp K. M., Trujillo E. Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: nutritional genomics. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics** v.114, p.299-312, 2014.

Castaneda T. R., Tong J., Datta R., Culler M., Tschop M. H. Ghrelin in the regulation of body weight and metabolism. **Front Neuroendocrinol** v.31, p.44-60, 2010.

Chen R., Mias G. I., Li-Pook-Than J., Jiang L., Lam H. Y., Chen R., Miriami E., Karczewski K. J., Hariharan M., Dewey F. E., Cheng Y., Clark M. J., Im H., Habegger L., Balasubramanian S., O'Huallachain M., Dudley J. T., Hillenmeyer S., Haraksingh R., Sharon D., Euskirchen G., Lacroute P., Bettinger K., Boyle A. P., Kasowski M., Grubert F., Seki S., Garcia M., Whirl-Carrillo M., Gallardo M., Blasco M. A., Greenberg P. L., Snyder P., Klein T. E., Altman R. B., Butte A. J., Ashley E. A., Gerstein M., Nadeau K. C., Tang H., Snyder M. Personal omics profiling reveals dynamic molecular and medical phenotypes. **Cell** v.148, p.1293-1307, 2012.

Cheng K. C., Li Y. X., Asakawa A., Inui A. The role of ghrelin in energy homeostasis and its potential clinical relevance (Review). **International journal of molecular medicine** v.26, p.771-778, 2010.

Clement K., Manning B. S., Basdevant A., Strosberg A. D., Guy-Grand B., Froguel P. Gender effect of the Trp64Arg mutation in the beta 3 adrenergic receptor gene on weight gain in morbid obesity. **Diabetes Metab** v.23, p.424-427, 1997.

Clement K., Ruiz J., Cassard-Doulcier A. M., Bouillaud F., Ricquier D., Basdevant A., Guy-Grand B., Froguel P. Additive effect of A-->G (-3826) variant of the uncoupling protein gene and the Trp64Arg mutation of the beta 3-adrenergic receptor gene on weight gain in morbid obesity. **Int J Obes Relat Metab Disord** v.20, p.1062-1066, 1996.

Cohen S. S., Gammon M. D., North K. E., Millikan R. C., Lange E. M., Williams S. M., Zheng W., Cai Q., Long J., Smith J. R., Signorello L. B., Blot W. J., Matthews C. E. ADIPOQ, ADIPOR1, and ADIPOR2 Polymorphisms in Relation to Serum Adiponectin Levels and BMI in Black and White Women. **Obesity (Silver Spring)**, 2011.

Corella D., Guillen M., Portoles O., Sorli J. V., Alonso V., Folch J., Saiz C. Gender specific associations of the Trp64Arg mutation in the beta3-adrenergic receptor gene with obesity-related phenotypes in a Mediterranean population: interaction with a common lipoprotein lipase gene variation. **J Intern Med** v.250, p.348-360, 2001.

Corpeleijn E., Petersen L., Holst C., Saris W. H., Astrup A., Langin D., MacDonald I., Martinez J. A., Oppert J. M., Polak J., Pedersen O., Froguel P., Arner P., Sorensen T. I., Blaak E. E. Obesity-related polymorphisms and their associations with the ability to regulate fat oxidation in obese Europeans: the NUGENOB study. **Obesity (Silver Spring)** v.18, p.1369-1377, 2010.

Correa-Silva S. R., Sa L. B., Lengyel A. M. [Ghrelin and growth hormone secretagogues (GHS): modulation of growth hormone secretion and therapeutic applications]. **Arq Bras Endocrinol Metabol** v.52, p.726-733, 2008.

Daghestani M. H., Warsy A., Al-Odaib A. N., Eldali A., Al-Eisa N. A., Omer S. A., Hassan Z. K. Arginine 16 Glycine Polymorphism in beta2-Adrenergic Receptor Gene is Associated with Obesity, Hyperlipidemia, Hyperleptinemia, and Insulin Resistance in Saudis. **Int J Endocrinol** v.2012, p.945608, 2012.

Darmon N., Drewnowski A. Does social class predict diet quality? **Am J Clin Nutr** v.87, p.1107-1117, 2008.

de Luis D. A., Aller R., Izaola O., Gonzalez Sagrado M., Conde R. Relation of Trp64Arg polymorphism of beta 3-adrenergic receptor gene to adipocytokines and fat distribution in obese patients. **Ann Nutr Metab** v.52, p.267-271, 2008.

DeBusk R. Diet-related disease, nutritional genomics, and food and nutrition professionals. **J Am Diet Assoc** v.109, p.410-413, 2009.

Dennis E. A., Flack K. D., Davy B. M. Beverage consumption and adult weight management: A review. **Eat Behav** v.10, p.237-246, 2009.

Deram S., Nicolau C. Y., Perez-Martinez P., Guazzelli I., Halpern A., Wajchenberg B. L., Ordovas J. M., Villares S. M. Effects of perilipin (PLIN) gene variation on metabolic syndrome risk and weight loss in obese children and adolescents. **J Clin Endocrinol Metab** v.93, p.4933-4940, 2008.

Deram S., Villares S. M. Genetic variants influencing effectiveness of weight loss strategies. **Arq Bras Endocrinol Metabol** v.53, p.129-138, 2009.

Dinsa G. D., Goryakin Y., Fumagalli E., Suhrcke M. Obesity and socioeconomic status in developing countries: a systematic review. **Obes Rev** v.13, p.1067-1079, 2012.

Dionne I. J., Turner A. N., Tchernof A., Pollin T. I., Avrithi D., Gray D., Shuldiner A. R., Poehlman E. T. Identification of an interactive effect of beta3- and alpha2b-adrenoceptor gene polymorphisms on fat mass in Caucasian women. **Diabetes** v.50, p.91-95, 2001.

Drong A. W., Lindgren C. M., McCarthy M. I. The genetic and epigenetic basis of type 2 diabetes and obesity. **Clin Pharmacol Ther** v.92, p.707-715, 2012.

Elliott R. M., Johnson I. T. Nutrigenomic approaches for obesity research. **Obes Rev** v.8 Suppl 1, p.77-81, 2007.

Enocksson S., Shimizu M., Lonnqvist F., Nordenstrom J., Arner P. Demonstration of an in vivo functional beta 3-adrenoceptor in man. **J Clin Invest** v.95, p.2239-2245, 1995.

Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). **JAMA** v.285, p.2486-2497, 2001.

Finkelstein E. A., Ruhm C. J., Kosa K. M. Economic causes and consequences of obesity. **Annu Rev Public Health** v.26, p.239-257, 2005.

Flegal K. M., Carroll M. D., Ogden C. L., Curtin L. R. Prevalence and trends in obesity among US adults, 1999-2008. **JAMA** v.303, p.235-241, 2010.

Furtado-Alle L., Andrade F. A., Nunes K., Mikami L. R., Souza R. L., Chautard-Freire-Maia E. A. Association of variants of the -116 site of the butyrylcholinesterase BCHE gene to enzyme activity and body mass index. **Chem Biol Interact** v.175, p.115-118, 2008.

Gagnon J., Mauriege P., Roy S., Sjostrom D., Chagnon Y. C., Dionne F. T., Oppert J. M., Perusse L., Sjostrom L., Bouchard C. The Trp64Arg mutation of the beta3 adrenergic receptor gene has no effect on obesity phenotypes in the Quebec Family Study and Swedish Obese Subjects cohorts. **J Clin Invest** v.98, p.2086-2093, 1996.

Garcia E. A., King P., Sidhu K., Ohgusu H., Walley A., Lecoecur C., Gueorguiev M., Khalaf S., Davies D., Grossman A. B., Kojima M., Petersenn S., Froguel P., Korbonits M. The role of ghrelin and ghrelin-receptor gene variants and promoter activity in type 2 diabetes. **Eur J Endocrinol** v.161, p.307-315, 2009.

Garenc C., Perusse L., Chagnon Y. C., Rankinen T., Gagnon J., Borecki I. B., Leon A. S., Skinner J. S., Wilmore J. H., Rao D. C., Bouchard C. Effects of beta2-adrenergic receptor gene variants on adiposity: the HERITAGE Family Study. **Obes Res** v.11, p.612-618, 2003.

Gjesing A. P., Sparso T., Borch-Johnsen K., Jorgensen T., Pedersen O., Hansen T., Olsen N. V. No consistent effect of ADRB2 haplotypes on obesity, hypertension and quantitative traits of body fatness and blood pressure among 6,514 adult Danes. **PLoS One** v.4, p.e7206, 2009.

Goossens G. H., Petersen L., Blaak E. E., Hul G., Arner P., Astrup A., Froguel P., Patel K., Pedersen O., Polak J., Oppert J. M., Martinez J. A., Sorensen T. I., Saris W. H. Several obesity- and nutrient-related gene polymorphisms but not FTO and UCP variants modulate postabsorptive resting energy expenditure and fat-induced thermogenesis in obese individuals: the NUGENOB study. **Int J Obes (Lond)** v.33, p.669-679, 2009.

Health. N. I. o. Clinical Guidelines on the Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults. The Evidence Report. National Institutes of Health. **Obes Res** v.6 Suppl 2, p.51S-209S, 1998.

Hendriks H. F. Use of nutrigenomics endpoints in dietary interventions. **The Proceedings of the Nutrition Society** v.72, p.348-351, 2013.

Herrera B. M., Keildson S., Lindgren C. M. Genetics and epigenetics of obesity. **Maturitas** v.69, p.41-49, 2011.

Hetherington M. M., Cecil J. E. Gene-environment interactions in obesity. **Forum Nutr** v.63, p.195-203, 2010.

Hill J. O., Thompson H., Wyatt H. Weight maintenance: what's missing? **J Am Diet Assoc** v.105, p.S63-66, 2005.

Hossain P., Kavar B., El Nahas M. Obesity and diabetes in the developing world--a growing challenge. **N Engl J Med** v.356, p.213-215, 2007.

IBGE. Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009. Antropometria e estado nutricional de crianças e adultos no Brasil. In: **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística** (IBGE), 2010.

Insel P. A. Seminars in medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. Adrenergic receptors--evolving concepts and clinical implications. **N Engl J Med** v.334, p.580-585, 1996.

Isaak C. K., Siow Y. L. The evolution of nutrition research. **Canadian journal of physiology and pharmacology** v.91, p.257-267, 2013.

Jakicic J. M., Clark K., Coleman E., Donnelly J. E., Foreyt J., Melanson E., Volek J., Volpe S. L. American College of Sports Medicine position stand. Appropriate intervention strategies for weight loss and prevention of weight regain for adults. **Med Sci Sports Exerc** v.33, p.2145-2156, 2001.

Jalba M. S., Rhoads G. G., Demissie K. Association of codon 16 and codon 27 beta 2-adrenergic receptor gene polymorphisms with obesity: a meta-analysis. **Obesity (Silver Spring)** v.16, p.2096-2106, 2008.

Johnson R. L., Williams S. M., Spruill I. J. Genomics, nutrition, obesity, and diabetes. **J Nurs Scholarsh** v.38, p.11-18, 2006.

Kadowaki H., Yasuda K., Iwamoto K., Otabe S., Shimokawa K., Silver K., Walston J., Yoshinaga H., Kosaka K., Yamada N., et al. A mutation in the beta 3-adrenergic receptor gene is associated with obesity and hyperinsulinemia in Japanese subjects. **Biochem Biophys Res Commun** v.215, p.555-560, 1995.

Kawamura T., Egusa G., Fujikawa R., Okubo M. Gln27Glu variant of the beta2-adrenergic receptor gene is not associated with obesity and diabetes in Japanese-Americans. **Metabolism** v.50, p.443-446, 2001.

Kojima M., Kangawa K. Ghrelin: structure and function. **Physiol Rev** v.85, p.495-522, 2005.

Korbonits M., Gueorguiev M., O'Grady E., Lecoecur C., Swan D. C., Mein C. A., Weill J., Grossman A. B., Froguel P. A variation in the ghrelin gene increases weight and decreases insulin secretion in tall, obese children. **J Clin Endocrinol Metab** v.87, p.4005-4008, 2002.

Kumanyika S., Jeffery R. W., Morabia A., Ritenbaugh C., Antipatis V. J. Obesity prevention: the case for action. **Int J Obes Relat Metab Disord** v.26, p.425-436, 2002.

Kumanyika S. K., Obarzanek E., Stettler N., Bell R., Field A. E., Fortmann S. P., Franklin B. A., Gillman M. W., Lewis C. E., Poston W. C., 2nd, Stevens J., Hong Y. Population-based prevention of obesity: the need for comprehensive promotion of healthful eating, physical activity, and energy balance: a scientific statement from American Heart Association Council on Epidemiology and Prevention, Interdisciplinary Committee for Prevention (formerly the expert panel on population and prevention science). **Circulation** v.118, p.428-464, 2008.

Kuriyama S., Shimazu T., Hozawa A., Kure S., Kurokawa N., Kakizaki M., Sone T., Matsuda-Ohmori K., Nakaya N., Satoh H., Tsuji I. No effect of the Trp64Arg variant of the beta3-adrenergic receptor gene on weight loss by diet and exercise intervention among Japanese adults. **Metabolism** v.57, p.1570-1575, 2008.

Kurokawa N., Young E. H., Oka Y., Satoh H., Wareham N. J., Sandhu M. S., Loos R. J. The ADRB3 Trp64Arg variant and BMI: a meta-analysis of 44 833 individuals. **Int J Obes (Lond)** v.32, p.1240-1249, 2008.

Lahiri D. K., Nurnberger J. I., Jr. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. **Nucleic Acids Res** v.19, p.5444, 1991.

Lange L. A., Norris J. M., Langefeld C. D., Nicklas B. J., Wagenknecht L. E., Saad M. F., Bowden D. W. Association of adipose tissue deposition and beta-2 adrenergic receptor variants: the IRAS family study. **Int J Obes (Lond)** v.29, p.449-457, 2005.

Large V., Hellstrom L., Reynisdottir S., Lonnqvist F., Eriksson P., Lannfelt L., Arner P. Human beta-2 adrenoceptor gene polymorphisms are highly frequent in obesity and associate with altered adipocyte beta-2 adrenoceptor function. **J Clin Invest** v.100, p.3005-3013, 1997.

Lee S. Y., Gallagher D. Assessment methods in human body composition. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care** v.11, p.566-572, 2008.

Loos R. J. Genetic determinants of common obesity and their value in prediction. **Best Pract Res Clin Endocrinol Metab** v.26, p.211-226, 2012.

Macronutrients A. R. o. t. P. o., Nutrients S. o. U. R. L. o., Interpretation, Intakes U. o. D. R., Intakes S. C. o. t. S. E. o. D. R. (2005) Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids (Macronutrients). The National Academies Press, Mager U., Kolehmainen M., Lindstrom J., Eriksson J. G., Valle T. T., Hamalainen H., Ilanne-Parikka P., Keinanen-Kiukaanniemi S., Tuomilehto J. O., Pulkkinen L., Uusitupa M. I. Association between ghrelin gene variations and blood pressure in subjects with impaired glucose tolerance. **Am J Hypertens** v.19, p.920-926, 2006.

Mancini M. C., Halpern A. Investigational therapies in the treatment of obesity. **Expert Opin Investig Drugs** v.15, p.897-915, 2006.

Marti A., Moreno-Aliaga M. J., Hebebrand J., Martinez J. A. Genes, lifestyles and obesity. **Int J Obes Relat Metab Disord** v.28 Suppl 3, p.S29-36, 2004.

Marti A., Moreno-Aliaga M. J., Zulet A., Martinez J. A. [Advances in molecular nutrition: nutrigenomics and/or nutrigenetics]. **Nutr Hosp** v.20, p.157-164, 2005.

Matsushita Y., Yokoyama T., Yoshiike N., Matsumura Y., Date C., Kawahara K., Tanaka H. The Trp(64)Arg polymorphism of the beta(3)-adrenergic receptor gene is not associated with body weight or body mass index in Japanese: a longitudinal analysis. **J Clin Endocrinol Metab** v.88, p.5914-5920, 2003.

Mattevi V. S., Zembrzuski V. M., Hutz M. H. Impact of variation in ADRB2, ADRB3, and GNB3 genes on body mass index and waist circumference in a Brazilian population. **American journal of human biology : the official journal of the Human Biology Council** v.18, p.182-186, 2006.

Mirрахимов A. E., Керимкулова A. S., Лунегова O. S., Молдокеева C. B., Заlesskaya Y. V., Абилова S. S., Совхозова N. A., Алдашев A. A., Mirрахимов E. M. An association between TRP64ARG polymorphism of the B3 adrenoreceptor gene and some metabolic disturbances. **Cardiovascular diabetology** v.10, p.89, 2011.

Moreno-Aliaga M. J., Santos J. L., Marti A., Martinez J. A. Does weight loss prognosis depend on genetic make-up? **Obes Rev** v.6, p.155-168, 2005.

NICE Obesity: the prevention, identification, assessment and management of overweight and obesity in adults and children. National Institute for Health and Clinical Excellence. **NICE clinical guideline**. v.43, 2006.

Nogueiras R., Tschop M. H., Zigman J. M. Central nervous system regulation of energy metabolism: ghrelin versus leptin. **Ann N Y Acad Sci** v.1126, p.14-19, 2008.

Oberkofler H., Esterbauer H., Hell E., Krempler F., Patsch W. The Gln27Glu polymorphism in the beta2-adrenergic receptor gene is not associated with morbid obesity in Austrian women. **Int J Obes Relat Metab Disord** v.24, p.388-390, 2000.

Ogden C. L., Carroll M. D., McDowell M. A., Flegal K. M. Obesity among adults in the United States--no statistically significant change since 2003-2004. **NCHS Data Brief**, p.1-8, 2007.

Ordovas J. M. Genotype-phenotype associations: modulation by diet and obesity. **Obesity (Silver Spring)** v.16 Suppl 3, p.S40-46, 2008.

Peeters T. L. Central and peripheral mechanisms by which ghrelin regulates gut motility. **J Physiol Pharmacol** v.54 Suppl 4, p.95-103, 2003.

Pereira A. C., Floriano M. S., Mota G. F., Cunha R. S., Herkenhoff F. L., Mill J. G., Krieger J. E. Beta2 adrenoceptor functional gene variants, obesity, and blood pressure level interactions in the general population. **Hypertension** v.42, p.685-692, 2003.

Perez-Martinez P., Yiannakouris N., Lopez-Miranda J., Arnett D., Tsai M., Galan E., Straka R., Delgado-Lista J., Province M., Ruano J., Borecki I., Hixson J., Garcia-Bailo B., Perez-Jimenez F., Ordovas J. M. Postprandial triacylglycerol metabolism is modified by the presence of genetic variation at the perilipin (PLIN) locus in 2 white populations. **Am J Clin Nutr** v.87, p.744-752, 2008.

Petersen M., Taylor M. A., Saris W. H., Verdich C., Toubro S., Macdonald I., Rossner S., Stich V., Guy-Grand B., Langin D., Martinez J. A., Pedersen O., Holst C., Sorensen T. I., Astrup A. Randomized, multi-center trial of two hypo-energetic diets in obese subjects: high- versus low-fat content. **Int J Obes (Lond)** v.30, p.552-560, 2006.

Phillips C. M. Nutrigenetics and metabolic disease: current status and implications for personalised nutrition. **Nutrients** v.5, p.32-57, 2013.

Popkin B. M. The nutrition transition: an overview of world patterns of change. **Nutr Rev** v.62, p.S140-143, 2004.

Poykko S. M., Kellokoski E., Horkko S., Kauma H., Kesaniemi Y. A., Ukkola O. Low plasma ghrelin is associated with insulin resistance, hypertension, and the prevalence of type 2 diabetes. **Diabetes** v.52, p.2546-2553, 2003.

Rankinen T., Zuberi A., Chagnon Y. C., Weisnagel S. J., Argyropoulos G., Walts B., Perusse L., Bouchard C. The human obesity gene map: the 2005 update. **Obesity (Silver Spring)** v.14, p.529-644, 2006.

Rawson E. S., Nolan A., Silver K., Shuldiner A. R., Poehlman E. T. No effect of the Trp64Arg beta(3)-adrenoceptor gene variant on weight loss, body composition, or energy expenditure in obese, caucasian postmenopausal women. **Metabolism** v.51, p.801-805, 2002.

Robitaille J., Perusse L., Bouchard C., Vohl M. C. Genes, fat intake, and cardiovascular disease risk factors in the Quebec Family Study. **Obesity (Silver Spring)** v.15, p.2336-2347, 2007.

Rosado E. L., Bressan J., Martinez J. A., Marques-Lopes I. Interactions of the PPARgamma2 polymorphism with fat intake affecting energy metabolism and nutritional outcomes in obese women. **Ann Nutr Metab** v.57, p.242-250, 2010.

Rudkowska I., Perusse L. Individualized weight management: what can be learned from nutrigenomics and nutrigenetics? **Progress in molecular biology and translational science** v.108, p.347-382, 2012.

Ruiz J. R., Larrarte E., Margareto J., Ares R., Labayen I. Role of beta(2)-adrenergic receptor polymorphisms on body weight and body composition response to energy restriction in obese women: preliminary results. **Obesity (Silver Spring)** v.19, p.212-215, 2011.

Ryan D. H., Braverman-Panza J. Obesity in women. **The Journal of family practice** v.63, p.S15-20, 2014.

Sacks F. M., Bray G. A., Carey V. J., Smith S. R., Ryan D. H., Anton S. D., McManus K., Champagne C. M., Bishop L. M., Laranjo N., Leboff M. S., Rood J. C., de Jonge L., Greenway F. L., Loria C. M., Obarzanek E., Williamson D. A. Comparison of weight-loss diets with different compositions of fat, protein, and carbohydrates. **N Engl J Med** v.360, p.859-873, 2009.

Schmidt M. I., Duncan B. B., Azevedo e Silva G., Menezes A. M., Monteiro C. A., Barreto S. M., Chor D., Menezes P. R. Chronic non-communicable diseases in Brazil: burden and current challenges. **Lancet** v.377, p.1949-1961, 2011.

Scofield M. A., Deupree J. D., Bylund D. B. Adrenergic receptor genes: cDNA and genomic library construction. **Mol Biotechnol** v.21, p.171-197, 2002.

Seagle H. M., Strain G. W., Makris A., Reeves R. S. Position of the American Dietetic Association: weight management. **J Am Diet Assoc** v.109, p.330-346, 2009.

Shiwaku K., Nogi A., Anuurad E., Kitajima K., Enkhmaa B., Shimono K., Yamane Y. Difficulty in losing weight by behavioral intervention for women with Trp64Arg polymorphism of the beta3-adrenergic receptor gene. **Int J Obes Relat Metab Disord** v.27, p.1028-1036, 2003.

Siitonen N., Pulkkinen L., Lindstrom J., Kolehmainen M., Eriksson J. G., Venojarvi M., Ilanne-Parikka P., Keinanen-Kiukaanniemi S., Tuomilehto J., Uusitupa M. Association of ADIPOQ gene variants with body weight, type 2 diabetes and serum adiponectin concentrations: the Finnish Diabetes Prevention Study. **BMC Med Genet** v.12, p.5, 2011.

Simopoulos A. P. Nutrigenetics/Nutrigenomics. **Annu Rev Public Health** v.31, p.53-68, 2010.

Sone Y., Yamaguchi K., Fujiwara A., Kido T., Kawahara K., Ishiwaki A., Kondo K., Morita Y., Tominaga N., Otsuka Y. Association of lifestyle factors, polymorphisms in adiponectin, perilipin and hormone sensitive lipase, and clinical markers in Japanese males. **J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)** v.56, p.123-131, 2010.

Sposito M., Caramelli B., Fonseca F. A. H., Bertolami M. C., Afiune Neto A. IV Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia** v.88, p.2-19, 2007.

Steinle N. I., Pollin T. I., O'Connell J. R., Mitchell B. D., Shuldiner A. R. Variants in the ghrelin gene are associated with metabolic syndrome in the Old Order Amish. **J Clin Endocrinol Metab** v.90, p.6672-6677, 2005.

Story M., Kaphingst K. M., Robinson-O'Brien R., Glanz K. Creating healthy food and eating environments: policy and environmental approaches. **Annu Rev Public Health** v.29, p.253-272, 2008.

Swinburn B. A., Caterson I., Seidell J. C., James W. P. Diet, nutrition and the prevention of excess weight gain and obesity. **Public Health Nutr** v.7, p.123-146, 2004.

Swinburn B. A., Sacks G., Hall K. D., McPherson K., Finegood D. T., Moodie M. L., Gortmaker S. L. The global obesity pandemic: shaped by global drivers and local environments. **Lancet** v.378, p.804-814, 2011.

Takenaka A., Nakamura S., Mitsunaga F., Inoue-Murayama M., Udono T., Suryobroto B. Human-specific SNP in obesity genes, adrenergic receptor beta2 (ADRB2), Beta3 (ADRB3), and PPAR gamma2 (PPARG), during primate evolution. **PLoS One** v.7, p.e43461, 2012.

Tchernof A., Starling R. D., Turner A., Shuldiner A. R., Walston J. D., Silver K., Poehlman E. T. Impaired capacity to lose visceral adipose tissue during weight reduction in obese postmenopausal women with the Trp64Arg beta3-adrenoceptor gene variant. **Diabetes** v.49, p.1709-1713, 2000.

Tsuzaki K., Kotani K., Nagai N., Saiga K., Sano Y., Hamada T., Moritani T., Yoshimura M., Egawa K., Horikawa C., Kitagawa Y., Kiso Y., Sakane N. Adiponectin gene single-nucleotide polymorphisms and treatment response to obesity. **J Endocrinol Invest** v.32, p.395-400, 2009.

Ukkola O. Genetic variants of ghrelin in metabolic disorders. **Peptides** v.32, p.2319-2322, 2011.

Ukkola O., Ravussin E., Jacobson P., Perusse L., Rankinen T., Tschop M., Heiman M. L., Leon A. S., Rao D. C., Skinner J. S., Wilmore J. H., Sjostrom L., Bouchard C. Role of ghrelin polymorphisms in obesity based on three different studies. **Obes Res** v.10, p.782-791, 2002.

Ukkola O., Ravussin E., Jacobson P., Snyder E. E., Chagnon M., Sjostrom L., Bouchard C. Mutations in the preproghrelin/ghrelin gene associated with obesity in humans. **J Clin Endocrinol Metab** v.86, p.3996-3999, 2001a.

Ukkola O., Tremblay A., Bouchard C. Beta-2 adrenergic receptor variants are associated with subcutaneous fat accumulation in response to long-term overfeeding. **Int J Obes Relat Metab Disord** v.25, p.1604-1608, 2001b.

Vannice G., Rasmussen H. Position of the academy of nutrition and dietetics: dietary fatty acids for healthy adults. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics** v.114, p.136-153, 2014.

Villalobos-Comparan M., Teresa Flores-Dorantes M., Teresa Villarreal-Molina M., Rodriguez-Cruz M., Garcia-Ulloa A. C., Robles L., Huertas-Vazquez A., Saucedo-Villarreal N., Lopez-Alarcon M., Sanchez-Munoz F., Dominguez-Lopez A., Gutierrez-Aguilar R., Menjivar M., Coral-Vazquez R., Hernandez-Stengele G., Vital-Reyes V. S., Acuna-Alonzo V., Romero-Hidalgo S., Ruiz-Gomez D. G., Riano-Barros D., Herrera M. F., Gomez-Perez F. J., Froguel P., Garcia-Garcia E., Teresa Tusie-Luna M., Aguilar-Salinas C. A., Canizales-Quinteros S. The FTO gene is associated with adulthood obesity in the Mexican population. **Obesity (Silver Spring)** v.16, p.2296-2301, 2008.

Wang C. Y., Nguyen N. D., Morrison N. A., Eisman J. A., Center J. R., Nguyen T. V. Beta3-adrenergic receptor gene, body mass index, bone mineral density and fracture risk in elderly men and women: the Dubbo Osteoporosis Epidemiology Study (DOES). **BMC Med Genet** v.7, p.57, 2006.

Warodomwichit D., Shen J., Arnett D. K., Tsai M. Y., Kabagambe E. K., Peacock J. M., Hixson J. E., Straka R. J., Province M. A., An P., Lai C. Q., Parnell L. D., Borecki I. B., Ordovas J. M. ADIPOQ polymorphisms, monounsaturated fatty acids, and obesity risk: the GOLDN study. **Obesity (Silver Spring)** v.17, p.510-517, 2009.

Wells J. C., Marphatia A. A., Cole T. J., McCoy D. Associations of economic and gender inequality with global obesity prevalence: understanding the female excess. **Soc Sci Med** v.75, p.482-490, 2012.

WHO The world health report 1998 - Life in the 21st century: A vision for all., (1998).

WHO Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. **World Health Organ Tech Rep Ser** v.894, p.i-xii, 1-253, 2000.

Williams C. M., Ordovas J. M., Lairon D., Hesketh J., Lietz G., Gibney M., van Ommen B. The challenges for molecular nutrition research 1: linking genotype to healthy nutrition. **Genes Nutr** v.3, p.41-49, 2008.

Wing R. R., Phelan S. Long-term weight loss maintenance. **Am J Clin Nutr** v.82, p.222S-225S, 2005.

Xavier H. T. I. M. C., Faria Neto J. R., Assad M. H., Rocha V. Z., Sposito A. C., Fonseca F. A., dos Santos J. E., Santos R. D., Bertolami M. C., Faludi A. A., Martinez T. L. R., Diamant J., Guimarães A., Forti N. A., Moriguchi E., Chagas A. C. P., Coelho O. R., Ramires J. A. F. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arq Bras Cardiol** 2013a.

Xavier H. T. I. M. C., Faria Neto J. R., Assad M. H., Rocha V. Z., Sposito A. C., Fonseca F. A., dos Santos J. E., Santos R. D., Bertolami M. C., Faludi A. A., Martinez T. L. R., Diamant J., Guimarães A., Forti N. A., Moriguchi E., Chagas A. C. P., Coelho O. R., Ramires J. A. F. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arq. Bras. Cardiol.** v.v. 101, 2013b.

Xia Q., Grant S. F. The genetics of human obesity. **Ann N Y Acad Sci** v.1281, p.178-190, 2013.

Yamakita M., Ando D., Tang S., Yamagata Z. The Trp64Arg polymorphism of the beta3-adrenergic receptor gene is associated with weight changes in obese Japanese men: a 4-year follow-up study. **Journal of physiological anthropology** v.29, p.133-139, 2010.

Zera C., McGirr S., Oken E. Screening for obesity in reproductive-aged women. **Prev Chronic Dis** v.8, p.A125, 2011.

Zhuang L., Li M., Yu C., Li C., Zhao M., Lu M., Zheng T., Zhang R., Zhao W., Bao Y., Xiang K., Jia W., Wang N., Liu L. The Leu72Met polymorphism of the GHRL gene prevents the development of diabetic nephropathy in Chinese patients with type 2 diabetes mellitus. **Molecular and cellular biochemistry** v.387, p.19-25, 2014.

GLOSSÁRIO

Alelo	Uma de um par, ou série, de formas alternativas de um gene que ocorre em determinado <i>locus</i> em um cromossomo.
DNA	Ácido desoxirribonucleico; material genético portador de informações que constituem os genes.
<i>Locus</i>	Uma posição fixa em um cromossomo que é ocupada por um determinado gene ou um de seus alelos.
Polimorfismo	A existência de duas ou mais variantes em uma população de indivíduos, com pelo menos duas das variantes gênicas tendo frequências maiores que 1%.

APÊNDICES

APÊNDICE 1 Materiais e métodos

DELINEAMENTO DO ESTUDO

Foi realizada uma intervenção dietética para redução de peso com mulheres adultas obesas com um delineamento do tipo *quasi-experimental* com duração de nove semanas (duas semanas de pré-intervenção seguidas de sete semanas de intervenção e sem *follow-up*). Foram avaliados genes relacionados ao metabolismo energético e lipídico, parâmetros bioquímicos e antropométricos, com as seguintes variáveis e categorias:

- a) Independentes: Intervenção dietética para redução de peso e genes relacionados ao metabolismo (*ADRB2*, *ADRB3* e *GHRL*)
- b) Dependentes: Parâmetros antropométricos (índice de massa corporal e circunferência da cintura) e bioquímicos (perfil lipídico);
- c) Controle: Idade e nível socioeconômico.

As etapas da intervenção estão apresentadas no Quadro 01 e descritas posteriormente.

QUADRO 01. Delineamento e cronograma do estudo de intervenção para redução de peso de mulheres obesas em Curitiba no período de outubro a dezembro de 2011.

Semana	0 06 e 07.10	0 08.10	1 10 a 14.10	2 17 a 21.10	2 22.10	3 29.10	4 05.11	5 12.11	6 19.11	7 26.11	8 03.12	9 10.12
Seleção das participantes	x											
Pré-intervenção		x										
Elaboração da dieta			x	x								
Intervenção Dietética					x	x	x	x	x	x	x	x
ODI					x				x			x
ODG						x	x					
AFG											x	
Pós-Intervenção												x

ODI = Orientação dietética individual; ODG = Orientação dietética em grupo; AFG = Atividade física em grupo.

Participantes

Participaram do estudo mulheres adultas e obesas, residentes em Curitiba. O estudo foi desenvolvido em Curitiba entre outubro e dezembro de 2011 nas instalações da Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Os encontros ocorreram aos sábados para facilitar a aderência das participantes à intervenção.

Critérios de Inclusão

Foram considerados os seguintes critérios de inclusão: idade ≥ 20 anos, sexo feminino, portadora de obesidade, com saúde aparente, no período anterior ao climatério, não gestante, não lactante, com nível intermediário de alfabetização (capacidade de ler e escrever um texto breve) e aceitar participar da pesquisa.

Critérios De Exclusão

Foram considerados os seguintes critérios de exclusão: estar em tratamento dietoterápico ou medicamentoso para redução de peso, ser portadora de diabetes tipo I, de hipotireoidismo e/ou doença renal crônica e/ou hipertensão ou de doença crônica não controlada, ter feito cirurgia para redução de estômago, ser vegetariana, não ter disponibilidade para comparecer aos encontros na Universidade aos Sábados. Não foi questionado sobre o uso de medicamentos com objetivo de tratamento psiquiátrico.

Critérios Éticos

A pesquisa foi submetida e aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (parecer número 0005306/11). Os indivíduos elegíveis a participarem da pesquisa foram esclarecidos sobre o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) pela nutricionista pesquisadora responsável. Participaram da pesquisa somente os indivíduos que leram e assinaram o TCLE.

INSTRUMENTOS PARA A COLETA DE DADOS

Foram coletadas informações demográficas e socioeconômicas, dados antropométricos e bioquímicos, dietéticos e de genes relacionados ao controle de peso.

- Para a coleta das informações demográficas, socioeconômicas e dietéticas foi utilizado um questionário conforme APÊNDICE 2 e a coleta dos dados antropométricos, bioquímicos edogenótipo, ocorreuconforme descrito a seguir.

-Instrumento para coleta de dados de informações demográficas e socioeconômicas
Para a coleta de informações sociodemográficas e econômicas foi utilizado o questionário. Foram aplicadas as questões sobre informações demográficas, sobre nível socioeconômico e sobre ocupação.

- Instrumentos para a coleta de dados antropométricos

Foram coletados dados sobre peso, estatura e circunferência da cintura. Os dados de peso e estatura foram utilizados para cálculo do IMC. Para medir o peso foi utilizada balança marca Filizola, divisão 100 gramas, e para estatura foi utilizado estadiômetro da marca Seca. A medida da circunferência da cintura foi feita com fita antropométrica marca Seca.

- Instrumentos para coleta de dados bioquímicos

Para a coleta dos dados bioquímicos foi coletado sangue com seringas plásticas e agulhas descartáveis. O sangue coletado foi armazenado em tubos secos para análise do perfil lipídico.

- Instrumentos para coleta de informações sobre os genes

Para a coleta de informações sobre os genes de estudo foi coletado sangue com seringas plásticas e agulhas descartáveis. O sangue coletado foi armazenado em tubos com EDTA para análise de genes.

INSTRUMENTOS PARA ANÁLISE DOS DADOS

Microsoft Office Excel

Os dados provenientes do questionário foram abastecidos no Microsoft Office Excel 2007.

SPSS

Para análise estatística dos dados importados do Excel, foi utilizado o software SPSS versão 19.

ANÁLISE DOS DADOS

Análise dos dados antropométricos

Os dados de peso e estatura foram utilizados para calcular o Índice de Massa Corporal (IMC) ($\text{IMC} = \text{peso (kg)} / \text{estatura(m}^2\text{)}$) para avaliar a adiposidade corporal. A classificação do IMC (WHO, 1998) conforme foi a seguinte: obesidade grau I $\text{IMC} \geq 30$ a $34,99 \text{ kg/m}^2$; obesidade grau II $\text{IMC} \geq 35$ a $34,99 \text{ kg/m}^2$; e obesidade grau III $\text{IMC} \geq 40 \text{ kg/m}^2$. Em relação a classificação de risco de comorbidades a partir da circunferência da cintura, valores $< 80 \text{ cm}$ foram considerados baixo risco, os valores entre 80 e 88 cm foram considerados como alto risco e os maiores que 88 cm, como muito alto risco (NICE, 2006).

Análise dos dados bioquímicos

O sangue coletado foi encaminhado para laboratório de análises clínicas para avaliação do perfil lipídico. Para a análise dos dados bioquímicos, foram utilizadas a referência conforme laboratório de análise apresentados no QUADRO 2:

QUADRO 2: Parâmetros bioquímicos e valores de referência para das participantes do estudo de genética e nutrição com mulheres obesas em Curitiba de obesidade entre outubro e dezembro de 2011.

Parâmetro bioquímico	Valores de referências
Colesterol Total	desejável: < 200; limítrofe: 200 a 239; alto: ≥ 240.
Colesterol da HDL	baixo: < 40; desejável: > 60.
Triglicerídeos	desejável: < 150; limítrofe: 150 a 199; alto: 200 a 499; muito alto: ≥ 500.
Colesterol da LDL	ótimo: < 100; desejável: 100 a 129; limítrofe: 130 a 159; alto: 160 a 189; muito alto: ≥ 190.

(Xavier H. T., 2013a)

Análise do nível socioeconômico

Os dados coletados sobre informações demográficas e socioeconômicas, foram utilizados para classificar as participantes conforme a classe econômica, de A a E, conforme a associação brasileira de empresas de pesquisas (ABEP). Foram classificadas com alto nível socioeconômico as participantes nas categorias A e B, e como médio ou baixo as participantes nas categorias C, D e E.

ANÁLISE DO DNA

As amostras de sangue das participantes foram coletadas em tubos com EDTA. O DNA das amostras de sangue das participantes foi extraído conforme técnica estabelecida (Lahiri and Nurnberger, 1991) e diluído a uma concentração final de 20 ng/μL. A genotipagem dos polimorfismos dos genes *ADRB2* (Arg16Gly e Gln27Glu, rs1042713 e rs1042714, respectivamente) *GHRL* (Leu72Met, rs696217) e *ADRB3* (Trp64Arg, rs4994) foram realizadas por meio de genotipagem TaqMan®. Para a identificação dos alelos presentes para cada indivíduo da amostra, foi utilizado o seguinte protocolo: preparo de dois mix de reação e posterior aplicação em diferentes poços, cada um com 2 μL de DNA. Cada amostra foi somada a: 4 μL de TaqMan Universal PCR Master Mix, 4,2 μL de água ultra-pura e 0,3 μL do primer SNP específico. O aparelho utilizado para este protocolo de genotipagem foi o modelo Step One Plus da marca *Applied Biosystem* e foram utilizados os seguintes passos: 2 minutos a 50°C; 10 minutos a 95°C; repetir 45 vezes de 15 segundos a 95°C intercalados por 1 minuto a 62°C; 2 minutos a 60°C, o chamado “End Point”. Na fase de pós-leitura, foi realizada a determinação do

genótipo de cada indivíduo analisado e seu registro em um gráfico representativo gerado a partir da emissão de fluorescência da sonda marcada com fluoróforo VIC®, representando o alelo usual, e da sonda marcada com fluoróforo FAM®, capturando o alelo mutante. Amostras controle, previamente sequenciadas, representando cada possível genótipo (homozigoto usual, heterozigoto e homozigoto mutante) foram incluídas em cada reação para cada um dos quatro polimorfismos analisados. Para análise dos dados, foi considerado como modelo dominante heterozigoto + homozigoto mutante x homozigoto usual.

IMPLEMENTAÇÃO DA INTERVENÇÃO

A implementação da intervenção englobou o treinamento das equipes de atendimento e coleta de dados, o recrutamento e seleção das participantes, a pré-intervenção com coleta de dados, o desenvolvimento e o encerramento da intervenção. Estas etapas ocorreram nas instalações da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR). Para facilitar a referência ao estudo pela equipe e participantes, o projeto recebeu o nome de GeneAL, acronímia de genética e alimentação.

Treinamento das Equipes de Atendimento e Coleta de Dados

As equipes de atendimento e de coleta de dados das participantes da intervenção foram treinadas para atividades específicas (APÊNDICE 3, 4 e 5) pela nutricionista e pesquisadora responsável antes do início do estudo. O treinamento e a manutenção de cada componente da equipe em uma função pré-determinada visaram a padronização dos procedimentos e a qualidade das medidas coletadas.

Compuseram as equipes e receberam treinamento graduandos de diferentes Cursos da PUCPR sendo, 35 do Curso de Nutrição, sete do Curso de Educação Física e oito do Curso de Enfermagem. A equipe de biologia, composta por dois graduandos e uma professora doutora em genética, e um mestrando biomédico, receberam somente esclarecimentos sobre o estudo, uma vez que os mesmos já realizavam estas atividades em estágios relacionados à sua formação ou na prática profissional. Os integrantes da equipe de Nutrição que entrevistaram as participantes

e fizeram as orientações individuais foram identificadas como orientadoras de Nutrição. Visando minimizar a variação interindividual na coleta de dados antropométricos, foram alocados somente três estudantes de Educação Física, sendo os mesmos indivíduos na pré-intervenção e na pós-intervenção.

O QUADRO 3 ilustra a sequência e a distribuição das funções entre as equipes.

QUADRO 3. Equipe e cronograma de coleta de dados antropométricos e de sangue para análise de dados bioquímicos e dos genes das participantes do estudo sobre genética, obesidade e nutrição em Curitiba, 2011.

Equipe	Semana	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Dados	08.10	15.10	22.10	29.10	05.11	12.11	19.11	26.11	03.12	10.12
EF	Antropométricos	x				x					x
ENF BIO BIOM	Bioquímicos ^a	x									x
ENF BIO BIOM	Genes ^a	x									
NUT	Dietéticos Nutricionais	x									

^a= Coleta de sangue para análise; EF = Educação Física; ENF = Enfermagem; BIO= Biologia - Professora e graduandos; NUT = Nutrição; BIOM = Biomédico.

Recrutamento e Seleção das Participantes do Estudo

Recrutamento

Para o recrutamento das participantes foi divulgado na mídia local, televisão e rádio, o convite com a possibilidade de participar de uma pesquisa, dirigida para mulheres obesas, com o objetivo de controle de peso. As pessoas interessadas compareceram à PUCPR no local, horário e dias informados.

Seleção das participantes do estudo

Durante dois dias consecutivos, no período da tarde e noite, foi realizada a seleção das participantes do Projeto GeneAL, conforme detalhamento abaixo e descrição do protocolo de triagem no APÊNDICE 6. As pessoas que apresentaram os critérios de inclusão, que não apresentaram critérios de exclusão e que atenderam os critérios éticos, participaram da pesquisa. Os indivíduos que não

puderam participar da pesquisa, mas que compareceram à seleção, foram convidados a fazer acompanhamento nutricional gratuito na Clínica de Nutrição da PUCPR.

Conforme a ordem de chegada na Universidade, as candidatas receberam uma senha, para sequência nos passos conforme descrição abaixo.

O PASSO 1 foi a definição do IMC. Para tanto, a equipe de educação física, realizou a medição do peso e da estatura, conforme procedimentos descritos no protocolo (APÊNDICE 4), e para o cálculo do IMC, usou a fórmula: $\text{peso (kg)}/\text{estatura(m}^2\text{)}$. As pacientes classificadas como obesas com ($\text{IMC} \geq 30$), independente do grau de obesidade, foram encaminhadas para o Passo 2, as demais, pacientes com sobrepeso ou eutróficas, para atendimento gratuito na Clínica de Nutrição.

O PASSO 2 consistiu na entrevista às candidatas pela equipe de Nutrição e o preenchimento da ficha de triagem do protocolo de triagem (APÊNDICE 6) para definição da elegibilidade das participantes conforme critérios de inclusão e exclusão. As candidatas que atenderam os critérios de inclusão e não apresentaram os de exclusão, foram encaminhadas para o Passo 3, as demais, para atendimento gratuito na Clínica de Nutrição.

O PASSO 3 foi realizado pela equipe de Nutrição e abrangeu os esclarecimentos às candidatas sobre o estudo, assim como a leitura individual e assinatura, quando em concordância, do TCLE. Todas as candidatas que chegaram ao Passo 3, assinaram o TCLE e foram encaminhadas ao Passo 4.

No PASSO 4, as participantes receberam orientações verbais e por escrito da equipe de Biologia e do biomédico para comparecerem em jejum de 12 horas para coleta de sangue para o perfil lipídico (Sposito, 2007). Após esta etapa, as participantes foram encaminhadas para o Passo 5.

No PASSO 5, a equipe de Biologia designou uma identificação (ID) para cada participante por ordem de chegada e agendou um horário para a pré-intervenção. Cada participante recebeu estas informações por escrito.

PRÉ-INTERVENÇÃO

A pré-intervenção abrangeu o cadastro das participantes, a coleta dos dados e o agendamento para a intervenção. Para tanto, as participantes compareceram no horário estabelecido e foram conduzidas para diferentes etapas conforme descrição a seguir.

Cadastro das Participantes

Na primeira etapa a equipe de nutrição preencheu os BLOCOS A a C do questionário (APÊNDICE 2) em uma sala reservada para esta atividade. Após esta etapa, as participantes foram encaminhadas para a coleta de sangue. As mesmas foram orientadas a permanecerem com seus respectivos questionários e a entregarem somente à equipe de nutrição quando solicitado.

Coleta de Sangue

A coleta de sangue ocorreu no Laboratório de Enfermagem da PUCPR e foi realizada pela equipe de enfermagem, de biologia, pelo biomédico e Professora de Genética. As participantes, em jejum de no mínimo 12 horas, foram conduzidas individualmente para o procedimento, e esclarecidas e orientadas sobre a posição adequada para o procedimento. Ao término da coleta de sangue, as pacientes foram encaminhadas para o desjejum.

Lanche para Desjejum

Após a coleta de sangue e em sala reservada para esta atividade, as pacientes realizaram o desjejum. Após esta etapa, as participantes continuaram os procedimentos da coleta de dados, sendo encaminhadas para a antropometria.

Coleta de Dados Antropométricos

A coleta de dados antropométricos foi realizada, em salas reservadas para

esta atividade, pela equipe de Educação Física e registrada no BLOCO D do questionário (APÊNDICE 2). Para as medições, as participantes foram orientadas a posição adequada para cada medida. Após esta etapa as participantes foram encaminhadas para a coleta de dados nutricionais.

Coleta de Dados Dietéticos

Dados Nutricionais

Nesta etapa as orientadoras de Nutrição aplicaram individualmente o Recordatório Alimentar de 24h em mesas adequadas para esta atividade. Ao término desta entrevista, as participantes foram encaminhadas para o agendamento início da intervenção.

Agendamento para intervenção

As participantes agendaram o próximo encontro para iniciar a intervenção.

INTERVENÇÃO

A intervenção para redução do peso das participantes do estudo foi composta por Orientação Dietética Individual com dieta hipocalórica e lista de substituição de alimentos, Orientação Dietética em Grupo e Orientação para Atividade Física. As informações estão detalhadas abaixo e o cronograma destas atividades estão apresentados anteriormente no Quadro 1 .

Dieta Hipocalórica

Após a coleta de dados do recordatório alimentar de 24h das participantes na pré-intervenção, foram elaboradas as dietas hipocalóricas e as listas de substituição de alimentos conforme seguinte ordem e descrição:

- 1º. Elaboração dos modelos de dieta e lista de substituição de alimentos
- 2º. Cálculo do Valor Energético Total
- 3º. Definição do modelo de dieta para cada participante
- 4º. Preenchimento da lista de substituição de alimentos

1º. Elaboração dos modelos de dieta e lista de substituição de alimentos

Foram elaborados modelos de dieta e lista de substituição de alimentos (APÊNDICE 7) visando a padronização da intervenção dietética mais próxima possível em termos de calorias, macronutrientes, de cálcio e ferro para cada paciente. Os modelos de dieta e a lista de substituição de alimentos foram elaborados pela nutricionista pesquisadora responsável. Para tanto, foram utilizados o software de Nutrição Dietpro 4 com as informações nutricionais dos alimentos (Alimentação., 2006).

Modelos de Dieta

A elaboração dos modelos de dieta foi adaptada a partir do protocolo de intervenção dietética NUGENOB (Petersen *et al.*, 2006) e a partir das recomendações da *American Dietetic Association* (Seagle *et al.*, 2009) para controle de peso conforme detalhamento a abaixo.

Em relação ao protocolo do estudo Nugenob (Petersen *et al.*, 2006) foram considerados os aspectos aplicáveis à este estudo:

- criar modelos de dieta com cardápios de 24h que refletem hábitos culturais locais;
- contemplar as recomendações nacionais para alimentação saudável e padrões alimentares;
- atingir as recomendações nutricionais e energéticas para a intervenção dietética;
- identificar componentes dos cardápios que podem ser variados e desenvolver uma lista de substituição de alimentos que preserve os objetivos dietéticos;
- ajustar os modelos de dieta considerando as diferenças nas necessidades energética e padrões alimentares;
- aplicar um déficit calórico de 600 kcal, a partir do cálculo do Gasto Energético Total (GET)

[GET = taxa metabólica de repouso x 1,3]

A *American Dietetic Association* (Seagle *et al.*, 2009) propõem uma dieta hipocalórica como base de um programa de controle de peso. Outras recomendações específicas são propostas e foram aplicadas na elaboração dos modelos de dieta:

- distribuir as calorias totais ao longo do dia em quatro a cinco refeições/lanches por dia, incluindo o café da manhã;
- preferir um consumo maior de energia durante o dia e menor à noite;
- reduzir carboidrato e/ou gordura dietética para gerar um déficit calórico entre 500 a 1000 calorias abaixo da necessidade energética estimada;
- utilizar a equação de Mifflin-St Jeor (Seagle *et al.*, 2009) para cálculo da taxa metabólica de repouso com o peso atual:

$$\text{Taxa metabólica de repouso} = [10 \times \text{peso (kg)}] \times [6,25 \times \text{altura (cm)}] - 5 \times \text{idade (anos)} - 161$$

Desta forma, considerando a adaptação do protocolo NUGENOB (Petersen *et al.*, 2006) e as recomendações da *American Dietetic Association* (Seagle *et al.*, 2009), os modelos de dietas incluíram:

- quatro refeições por dia: desjejum, almoço, lanche da tarde e jantar (Seagle *et al.*, 2009) com a possibilidade de realocar um das frutas do dia para um lanche extra, pela manhã;
- três porções de frutas; três porções de hortaliças; no mínimo uma porção de carne; uma porção de leguminosa e três porções de laticínios (Brasil., 2008);
- alimentos simples como pão francês, queijo muçarela, arroz, feijão, café, óleo de soja e margarina (Brasil., 2008);
- uma opção de cereal integral, sendo representada pela aveia, por ser de fácil acesso, preparo e baixo custo;
- última refeição do dia elaborada com: grande quantidade de vegetais, moderada de alimentos fontes de proteína (carne, frango ou queijo) e limitada de carboidratos (arroz ou pão) e quantidade reduzida de calorias quando comparada ao almoço (Seagle *et al.*, 2009);

- percentual energético recomendado (Macronutrients *et al.*, 2005) proveniente dos macronutrientes sendo o percentual de energia proveniente das gorduras de no mínimo 20% e no máximo 35%; de carboidratos no mínimo de 45% e no máximo 65% e de proteínas no mínimo 10% a no máximo 35%;
- alimentos fontes de cálcio e ferro para atingir as recomendações de ingestão destes nutrientes (DRI);
- opções de valor energético total a partir de 1000 kcal, progredindo de 100 em 100 kcal até atingir o valor de 2200 kcal. Para cada modelo de dieta foi calculado uma opção de lanche e uma de jantar para a última refeição do dia em função da variação dos hábitos alimentares das participantes.

Lista de substituição de alimentos

A lista de substituição de alimentos foi desenvolvida com alimentos e medidas caseiras comuns (Brasil., 2008) e dividida em grupos de alimentos para café-da-manhã, lanche e jantar, almoço e jantar, frutas e vegetais. Para cada grupo de alimentos a lista apresenta opções de tamanhos diferentes de porções. Assim, a lista permite o preenchimento em campo específico para assinalar conforme os modelo de dieta selecionado.

2º. Cálculo do valor energético total

Para o cálculo do valor energético total para emagrecimento a fórmula foi abastecida no programa Excel. Assim, com os dados de peso, estatura e idade, a equipe de Nutrição calculou o valor energético para cada participante.

3º. Definição do modelo de dieta para cada participante

A partir da definição do valor energético para cada participante, a equipe de Nutrição selecionou o modelo de dieta apropriado em termos calóricos e entre a opção de lanche ou jantar para a última refeição do dia. Para esta escolha, foi utilizada a informação do recordatório alimentar de 24h de cada participante, coletada na pré-intervenção. Após estas definições, as dietas foram preenchidas com o nome, ID, peso e estatura das participantes.

4o. Preenchimento da lista de substituição de alimentos

A partir da definição da dieta, a equipe de Nutrição fez o preenchimento das listas de substituição de alimentos. Para tanto, os campos das diferentes porções dos diferentes alimentos da lista foram preenchidos a partir dos alimentos da dieta de cada participante. Cada lista de substituição foi identificada com o nome e a respectiva ID da participante e anexada à dieta correspondente.

Após o término destas etapas, o passo seguinte foi a orientação dietética individual, o início da intervenção dietética para a perda de peso.

ORIENTAÇÃO DIETÉTICA INDIVIDUAL 1

As participantes compareceram em local e horário conforme agendamento prévio. No momento da chegada as participantes foram conduzidas para a equipe de Nutrição para preenchimento do controle de frequência, para agendamento do encontro seguinte e encaminhamento para a respectiva orientadora de Nutrição. As orientadoras de Nutrição explicaram e entregaram a dieta com a lista de substituição de alimentos. Em todos os momentos da orientação a nutricionista pesquisadora responsável esteve disponível para esclarecimentos de dúvidas e orientação específica quando necessário.

ORIENTAÇÃO DIETÉTICA EM GRUPO 1 e 2

Após a orientação dietética individual foi realizada a orientação dietética em grupo nas duas semanas subsequentes. Esta foi realizada com grupos de no máximo 100 participantes na forma de palestras seguida de discussão. As palestras foram desenvolvidas em linguagem acessível com mensagens de fácil assimilação e aplicação. As duas orientações dietéticas em grupo foram realizadas pela nutricionista pesquisadora responsável em auditório apropriado para esta atividade. No momento da chegada e após cada palestra, foi realizado o controle de frequência das participantes e o agendamento para o encontro posterior pela equipe de Nutrição.

Tema da Palestra 1

A primeira palestra teve como tema “Cores e Sabores com Poucas Calorias. Sugestões para Ajudar no Dia a Dia”. A palestra foi desenvolvida com o objetivo de reforçar as informações da orientação individual; apontar opções saudáveis e com poucas calorias, isentas ou com baixo teor de sódio; indicar opções de doces com poucas calorias ou sobremesas sem açúcar, e esclarecer dúvidas identificadas pelas participantes no transcorrer de uma semana de intervenção.

Tema da Palestra 2

A segunda palestra teve como tema “Rotulagem Nutricional: O que saber e como usar?”. A palestra foi desenvolvida com o objetivo de esclarecer, conscientizar e promover autonomia às participantes na identificação das escolhas mais saudáveis, em relação ao teor de gordura, sódio e calorias, no momento da seleção e aquisição de alimentos industrializados.

ORIENTAÇÃO DIETÉTICA INDIVIDUAL 2

As participantes compareceram em local e horário conforme agendamento prévio para a segunda orientação dietética individual. No momento da chegada as participantes foram conduzidas para a equipe de Nutrição para preenchimento do controle de frequência, para agendamento do encontro seguinte e posterior encaminhamento para a respectiva orientadora de Nutrição para atendimento individual.

Neste encontro, três pontos foram abordados na orientação dietética individual.

1. Esclarecimento de dúvidas relacionadas à dieta prescrita.
2. Aplicação de um instrumento para identificar as possíveis barreiras para uma alimentação saudável e emagrecimento (APÊNDICE 8) com as respectivas sugestões de soluções.
3. Entrega de uma lista de temperos naturais (APÊNDICE 8) com sugestões de uso e algumas amostras. Este material foi desenvolvido para reduzir a monotonia alimentar sugerindo adicionar sabor aos alimentos com poucas calorias.

Após esta etapa, as participantes foram encaminhadas à equipe de Educação Física para medição para fins de acompanhamento do peso pela participantes, uma vez que nesta data completou um mês de intervenção. Este registro não foi incluído na análise dos dados.

ORIENTAÇÃO PARA ATIVIDADE FÍSICA EM GRUPO

No momento da chegada as participantes foram conduzidas para a equipe de Nutrição para preenchimento do controle de frequência e agendamento do encontro final. Para a atividade física em grupo as participantes compareceram no Ginásio de Esportes da PUCPR com roupas apropriadas. A atividade física em grupo foi desenvolvida por uma professora mestre em Educação Física visando orientar e ensinar as participantes sobre atividades físicas simples que aumentam o gasto calórico. As atividades foram desenvolvidas para indivíduos com excesso de peso.

PÓS-INTERVENÇÃO

As participantes compareceram em local e horário conforme agendamento prévio para a última etapa do estudo incluindo coleta de dados bioquímicos e antropométricos, entrega e esclarecimento dos resultados bioquímicos da pré-intervenção seguido da orientação dietética em grupo. No momento da chegada as participantes foram conduzidas para a equipe de Nutrição para preenchimento do controle de frequência.

Coleta de dados pós-teste

Coleta de dados Bioquímicos

Para a coleta de dados bioquímicos foi feita a coleta de sangue a qual ocorreu no mesmo local e com os mesmos procedimentos da coleta da pré-intervenção. Após esta etapa, as participantes foram encaminhadas para o jejum, conforme descrição anterior.

Coleta de dados antropométricos

A coleta de dados antropométricos seguiu os mesmos procedimentos da coleta na pré-intervenção. Após esta etapa, as participantes foram encaminhadas para encerramento do estudo.

Encerramento do estudo

No encerramento do estudo os resultados dos exames bioquímicos realizados na pré-intervenção foram entregues pela equipe de Nutrição. Posteriormente as dúvidas relacionadas aos resultados foram esclarecidas pela nutricionista pesquisadora responsável e em grupos de 30 participantes elas receberam orientação dietética para fim de ano. As participantes receberam por escrito estas informações e sobre a prática de atividade física também (APÊNDICE 9). Foi realizado o agendamento de local e horário para o recebimento dos resultados dos exames bioquímicos do pós-teste. As participantes foram orientadas a agendar atendimento individualizado e gratuito na Clínica de Nutrição, no caso de interesse.

APÊNDICE 2
Questionário de coleta de dados

ID#

BLOCO A: INFORMAÇÕES DEMOGRÁFICAS	
¹ Nome completo:	
<hr/>	
<hr/>	
² Data de nascimento: ____/____/____ ³ Idade: ____	
Endereço completo:	
⁴ Rua: _____	
_____ ⁵ Nº.: _____	
⁶ Complemento: _____	
⁷ Bairro: _____ ⁸ CEP: _____ ⁹ Cidade: _____	
¹⁰ Telefones:	
(____) _____ - _____ (residencial) ¹¹ (____) _____ - _____ (celular)	
¹² E-mail:	
<hr/>	
¹³ Profissão:	
<hr/>	

BLOCO B: NÍVEL SOCIOECONÔMICO		
Q1. Quantos destes itens você possui em casa?		
<input type="checkbox"/>	a. TV em cores	Q1.a.
<input type="checkbox"/>	b. Aspirador de pó	Q1.b.
<input type="checkbox"/>	c. Banheiro	Q1.c.
<input type="checkbox"/>	d. Automóvel	Q1.d.
<input type="checkbox"/>	e. Vídeo cassete/DVD	Q1.e.
<input type="checkbox"/>	f. Máquina de lavar roupa	Q1.f.
<input type="checkbox"/>	g. Rádio ou rádio relógio	Q1.g.
<input type="checkbox"/>	h. Freezer ou geladeira duplex	Q1.h.
<input type="checkbox"/>	i. Geladeira	Q1.i.
<input type="checkbox"/>	j. Motocicleta	Q1.j.
Q2. Qual é o grau de escolaridade do responsável financeiro da sua família?		
<input type="checkbox"/>	a. Analfabeto / Até 3ª série fundamental	Q2. _____
<input type="checkbox"/>	b. Até 4ª série fundamental	
<input type="checkbox"/>	c. Fundamental completo	
<input type="checkbox"/>	d. Médio completo	
<input type="checkbox"/>	e. Superior completo	

BLOCO C: OCUPAÇÃO	
Q3. Você trabalha? ⁰ [] Não (pule para a questão 10) ¹ [] Sim	Q3. _____
Q4. Qual é a sua ocupação? _____	Q4. _____
Q5. Seu trabalho é remunerado? ⁰ [] Não ¹ [] Sim	Q5. _____
Q6. Seu trabalho é com carteira assinada? (<i>formal</i>) ⁰ [] Não ¹ [] Sim	Q6. _____
Q7. Quantos dias por semana você trabalha? ¹ [] 1 ² [] 2 ³ [] 3 ⁴ [] 4 ⁵ [] 5 ⁶ [] 6 ⁷ [] 7	Q7. _____
Q8. Quantas horas POR DIA você trabalha? _____ horas _____ minutos	Q8. ____ h Q8. ____ min
Q9. Quanto tempo você gasta se deslocando (ir + voltar) POR DIA, para o trabalho? _____ horas _____ minutos	Q9. ____ h Q9. ____ min
Q10. Você frequenta escola/universidade? (Queremos saber se a pessoa estuda) ⁰ [] Não (pule para o Bloco 12 - questão 194) ¹ [] Sim	Q10. _____
Q11. Quantos dias por semana? ¹ [] 1 ² [] 2 ³ [] 3 ⁴ [] 4 ⁵ [] 5 ⁶ [] 6 ⁷ [] 7	Q11. _____
Q12. Nos dias em que você vai à escola quantas horas você fica lá? _____ horas _____ minutos	Q12. ____ h Q12. ____ min
Q13. Quanto tempo você gasta se deslocando (ir+voltar) POR DIA, para a escola/universidade? _____ horas _____ minutos	Q13. ____ h Q13. ____ min

BLOCO D: DADOS ANTROPOMÉTRICOS						
INFORMAÇÕES	Pré intervenção			Pós intervenção		
	1ª Med	2ª Med	MÉDIA	1ª Med	2ª Med	MÉDIA
Q14. Peso (Kg)			Q14a.			Q14b.
Q15. Altura (metros)			Q15a.			Q15b.
Q16. Circunferência da cintura (cm)			Q16a.			Q16b.
Q17. IMC (Kg/m²)						

APÊNDICE 3

Treinamento da equipe de nutrição para pré-intervenção

1º. atendimento | 1ª. consulta

- Aplicar e registrar o recordatório alimentar de 24h .
- **Não fazer intervenção nenhuma. Não emitir nenhuma opinião.** Caso necessário, esclarecer que as orientações serão feitas na próxima consulta.

Recordatório Alimentar de 24h

Registrar o relato do que se consumiu nas últimas 24h incluindo o número e tipo de refeições (desjejum, almoço, jantar e lanches), alimentos e preparações que constam em cada refeição, frequência de consumo e de ingestão de alimentos e guloseimas fora das refeições. Ingestão de água e bebidas.

APÊNDICE 4

Treinamento para coleta de medidas antropométricas

- **Peso** - orientar as pacientes a ficarem descalças e a retirarem o mínimo de roupas possível para evitar constrangimentos.

- **Estatuta** - orientar as pacientes a ficarem descalças, em posição ortostática, pés unidos, braços estendidos ao longo do corpo, cabeça orientada segundo plano de frankfurt, paralela ao chão e de frente para avaliador.

- **Circunferência da cintura** - para medir a circunferência da cintura , localize a parte superior do osso do quadril e o topo da crista ilíaca do lado direito. Coloque uma fita métrica na horizontal em torno do abdômen ao nível do crista ilíaca. Antes de ler a fita métrica, garanta que a fita esteja confortável, mas não comprimindo a pele, e que esteja paralela ao chão. A medição é feita no final de uma expiração normal.

Equipe:

- Usar uniforme.
- Levar caneta, para registro de dados e calculadora, para cálculo de IMC.

APÊNDICE 5

Protocolo de atendimento para início da intervenção

1º. FIRMAR COMPROMISSO COM A PESQUISA

“Dona Fulana, obrigada pelos preenchimento dos registros! No próximo a Sra. poderia colocar todos estes detalhes? Compreendo que é trabalhoso, mas é muito importante! Antes de entregar se Plano Alimentar, gostaria de lembrar que a Sra. está participando de uma pesquisa de grande importância, para tanto seu comprometimento no seguimento de seu Plano Alimentar e no preenchimento das fichas solicitadas é fundamental para o sucesso de todos nós. A Sra. se sente bastante comprometida? Inclusive neste período, não é faz parte do Plano Alimentar, **nenhum tipo de bebida alcoólica**, devido as calorias. Se for seu caso, a Sra. consegue eliminar nesse período, inclusive nos finais de semana? A Sra. confirma?

.....“Obrigada (o)! Que ótimo! Vamos adiante.”

2º. ENTREGA DO PLANO ALIMENTAR E DA LISTA DE SUBSTITUIÇÃO DE ALIMENTOS

“Dona Fulana, a Sra. está recebendo dois materiais, seu Plano Alimentar e uma lista de Substituição de Alimentos. O Plano Alimentar foi elaborado com as calorias necessárias para te manter bem e emagrecer. As calorias estão concentradas pela manhã e no almoço, e vão diminuindo da tarde até o jantar. Assim, o lanche da tarde deve ser feito para evitar que a Sra. sinta muita fome no jantar, o qual deve ser leve para te ajudar a emagrecer durante à noite!

A Sra. pode ter um jantar farto, para tanto abuse dos vegetais de consumo livre (pode ser cru ou cozido) que estão na lista de substituição. Os vegetais podem ser temperados com ervas, limão, vinagre ou aceto balsâmico, pois aumentam o sabor e não as calorias (pode escrever estes temperos na lista de substituição, ao lado dos vegetais de consumo livre, enquanto explica para ela)”

“Muito bem, observe que temos as refeições... (ir apontando café-da-manhã...), na 1ª. coluna temos os alimentos sugeridos e na 2ª. coluna, as quantidades, que devem

ser respeitadas ao máximo. Na 3^a. coluna estão as calorias de cada alimentos, mas não se preocupe com isto.”

- Ler os alimentos e as quantidades. Na metade, fazer A CHECAGEM DA COMPREENSÃO. Ou seja pedir para que ela fale para você o alimento e a quantidade.
- Se a paciente não tiver boa compreensão, ler um por um.

Oriente para que o jantar seja feito preferencialmente

- 1h ou 1h30 antes de dormir (no máximo 2h, pois mais que isso ela sentirá muita fome).
- Caso ela SE MANIFESTE sobre sentir fome no período da manhã ou tarde, você pode redistribuir uma das frutas, do café-da-manhã ou do lanche da tarde, mas NÃO ADICIONE NENHUM alimento.

“Dona Fulana, aqui temos as trocas possíveis de alimentos.”

- Ler alimento e apontar o destaque (quadrinho pintado).
- Fazer a CHECAGEM DA COMPREENSÃO, pedir para ela fazer 2 ou 3 trocas.

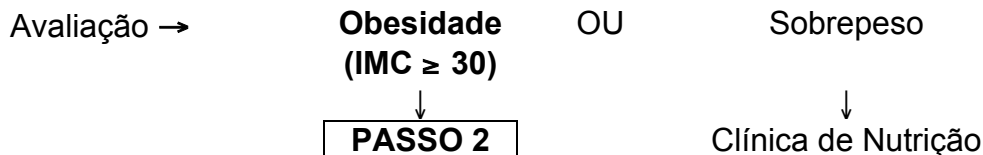
3º. ENCERRAMENTO

A Sra. está com alguma dúvida? Qualquer dúvida ou necessidade, pedimos que a Sra. ligue no telefone que está em seu Plano Alimentar!

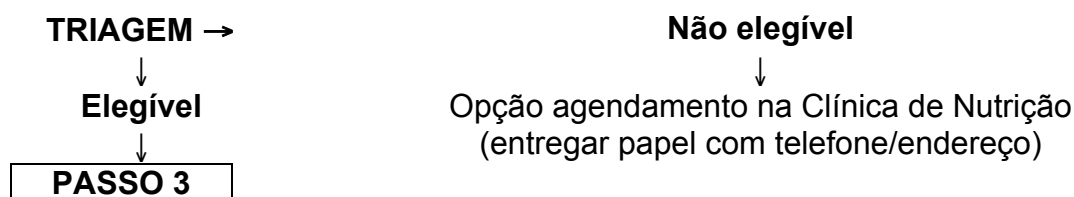
APÊNDICE 6

Protocolo para triagem das participantes do estudo

PASSO 1 | Definir IMC | Calcular peso e estatura.



PASSO 2 | Preencher FICHA DE TRIAGEM



PASSO 3 | TCLE | Entregar, orientar a leitura, aguardar pacientes ler e assinar. Recolher. **PASSO 4**

PASSO 4 | Orientação para coleta | Verbal e escrita. **PASSO 5**

PASSO 5 | Agendamento para Coleta | Agendar e entregar papel com horário e local.

SELEÇÃO DAS CANDIDATAS PARA PARTICIPAR DO “PROJETO GeneAL”

PASSO 1. PESO E ALTURA

PESO: _____ KG	Cálculo do IMC: IMC: $\frac{\text{peso}}{\text{altura} \times \text{altura}}$ IMC: _____ () x () Resultado: _____ kg/m ²	Classificação do IMC: <table border="1"> <thead> <tr> <th>IMC</th> <th>Classificação</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>< 18,5</td> <td>Baixo do peso (Encaminhar Clínica Nutrição)</td> </tr> <tr> <td>18,6 – 24,9</td> <td>Normal (Encaminhar Clínica Nutrição)</td> </tr> <tr> <td>25,0 – 29,9</td> <td>Sobrepeso (Encaminhar Clínica Nutrição)</td> </tr> <tr> <td>30,0 – 34,9</td> <td>Obesidade Grau I (PASSO 2 - TRIAGEM)</td> </tr> <tr> <td>35,0 – 39,9</td> <td>Obesidade Grau II (severa) (PASSO 2 - TRIAGEM)</td> </tr> <tr> <td>≥ 40,0</td> <td>Obesidade Grau III (mórbida) (PASSO 2 - TRIAGEM)</td> </tr> </tbody> </table>	IMC	Classificação	< 18,5	Baixo do peso (Encaminhar Clínica Nutrição)	18,6 – 24,9	Normal (Encaminhar Clínica Nutrição)	25,0 – 29,9	Sobrepeso (Encaminhar Clínica Nutrição)	30,0 – 34,9	Obesidade Grau I (PASSO 2 - TRIAGEM)	35,0 – 39,9	Obesidade Grau II (severa) (PASSO 2 - TRIAGEM)	≥ 40,0	Obesidade Grau III (mórbida) (PASSO 2 - TRIAGEM)
IMC	Classificação															
< 18,5	Baixo do peso (Encaminhar Clínica Nutrição)															
18,6 – 24,9	Normal (Encaminhar Clínica Nutrição)															
25,0 – 29,9	Sobrepeso (Encaminhar Clínica Nutrição)															
30,0 – 34,9	Obesidade Grau I (PASSO 2 - TRIAGEM)															
35,0 – 39,9	Obesidade Grau II (severa) (PASSO 2 - TRIAGEM)															
≥ 40,0	Obesidade Grau III (mórbida) (PASSO 2 - TRIAGEM)															
ESTATURA: _____ M																

PASSO 2. TRIAGEM

Perguntas	NÃO	SIM	Observação
a. Está entrando na menopausa?			
b. Está gestante?			
c. Está amamentando?			
d. Está fazendo algum tipo de dieta?			
e. Está tomando algum remédio para emagrecer?			
f. Tem diabetes tipo I (usa insulina)?			
g. Tem problema na tireoide (hipotireoidismo) não controlado?			
h. Tem problema renal?			
i. Tem pressão alta (é hipertensa) não controlada?			
j. Fez cirurgia de redução de estômago?			
k. É vegetariana?			
l. Sabe ler e escrever? (caso a participante responda “um pouco” considere como não)			
m. Tem disponibilidade para vir aos sábados na PUC? (no máx. até 13h)			
RESPOSTA Elegível – Quando todos os itens de “A” até “K” forem assinalados NÃO e os itens “L e M” assinalado SIM Não elegível - Quando um ou mais itens de “A” até “K” forem assinalados SIM e/ou itens “J e K” assinalado NÃO [] ELEGÍVEL [] NÃO ELEGÍVEL (PASSO 3 – Orientações e agendamento) (Encaminhar Clínica Nutrição)			

ORIENTAÇÕES GERAIS	SITUAÇÃO
PASSO 3. TCLE preenchido e assinado	
PASSO 4. ORIENTAÇÃO PARA COLETA: Você deve comparecer a clínica em jejum por 12 horas - de comida e bebida.	

PASSO 5. AGENDAMENTO		
NOME COMPLETO: _____		
TELEFONES: (____) _____ - _____ / (____) _____ - _____		
DATA: ____ / ____ / 2011	HORÁRIO: ____ : ____ h.	LOCAL: Clínica de Nutrição PUCPR

APÊNDICE 7

Lista de substituição de alimentos

CAFÉ-DA-MANHÃ LANCHE JANTAR
--

PÃO FRANCÊS

- ☐ 1 pão francês SEM miolo
ou 3 colheres de sopa rasas de aveia em flocos ou 1 fatia de pão de forma (branco ou integral) de pacote ou 4 biscoitos água e sal ou 2 colheres de sopa cheias de arroz.

- ☐ 1 pão francês COM miolo
ou 5 colheres de sopa cheias de aveia em flocos ou 1 ½ fatias de pão de forma (branco ou integral) de pacote ou 6 biscoitos água e sal ou 3 colheres de sopa cheias de arroz.

- ☐ 2 pães franceses SEM miolo
ou 2 fatias de pão de forma (branco ou integral) de pacote ou 8 biscoitos água e sal ou 4 colheres de sopa cheias de arroz.

- ☐ 2 pães franceses COM miolo
ou 3 ½ fatias de pão de forma (branco ou integral) de pacote ou 6 colheres de sopa cheias de arroz ou 5 colheres de sopa cheias de arroz e 5 colheres de sopa cheias de feijão.

MARGARINA

Pode ser substituída por requeijão ou geleia. Troque pela mesma quantidade que está em seu Plano Alimentar. A margarina também pode ser retirada de seu Plano Alimentar.

QUEIJO

2 fatias médias de queijo muçarela
ou 1 ½ copo tipo requeijão de leite desnatado ou 1 copo tipo requeijão de leite semidesnatado ou 120 ml de iogurte ou 300 ml de iogurte *light* ou natural desnatado ou *eventualmente* 4 colheres de sopa rasas de carne moída ou 1 ½ ovo de galinha cozido ou mexido (sem gordura).

LEITE

1 xícara de leite semidesnatado
2 colheres de sopa bem cheias de leite em pó desnatado ou 1 ½ fatia de queijo muçarela ou 1 iogurte natural desnatado (170g) ou 200 ml de iogurte *light* ou 200 ml de leite de soja ou bebida de soja enriquecida com cálcio.

CAFÉ

Pode ser substituído por café solúvel ou chás diversos ou retirado de seu Plano Alimentar.

AÇÚCAR

Pode ser substituído por adoçante de sua preferência ou retirado de seu Plano Alimentar.

AVEIA

☐ 3 colheres de sopa rasas de aveia em flocos
ou 1 pão francês SEM miolo ou 2 colheres de sopa cheias de arroz ou 1 fatia de pão de forma (branco ou integral) de pacote ou 4 biscoitos água e sal.

ALMOÇO | JANTAR

ARROZ

☐ 2 colheres de sopa cheias
ou 1 colher de servir cheia de arroz ou 1 pão francês sem miolo ou 1 escumadeira média rasa ou 1 ½ colher de servir cheia de macarrão ao sugo ou sem molho ou 1 fatia de pão de forma (branco ou integral) de pacote.

☐ 3 colheres de sopa cheias
ou 1 ½ colher de servir cheias de arroz ou 1 escumadeira média rasa ou 1 ½ pão francês sem miolo ou 1 com miolo ou 1 ½ escumadeiras médias cheias ou 2 colheres de servir cheias de macarrão ao sugo ou sem molho ou 1 ½ fatias de pão de forma (branco ou integral) de pacote.

☐ 4 colheres de sopa cheias
ou 2 colheres de servir cheias de arroz ou 1 ½ escumadeiras médias rasas ou 2 pães franceses sem miolo ou 2 escumadeiras médias rasas ou 3 colheres de servir cheias de macarrão ao sugo ou sem molho ou 2 fatias de pão de forma (branco ou integral) de pacote.

☐ 6 colheres de sopa
ou 3 colheres de servir cheias de arroz ou 3 escumadeiras médias rasas ou 3 pães franceses sem miolo ou 2 pães franceses com miolo ou 2 escumadeiras médias cheias ou 5 colheres de servir cheias de macarrão ao sugo ou sem molho ou 3 fatias de pão de forma (branco ou integral) de pacote.

☐ 8 colheres de sopa
ou 4 colheres de servir cheias de arroz ou 3 escumadeiras médias rasas ou 4 pães franceses sem miolo ou 2 ½ pães com miolo ou 3 escumadeiras médias cheias ou 6 colheres de servir cheias de macarrão ao sugo ou sem molho ou 4 fatias de pão de forma (branco ou integral) de pacote.

FEIJÃO (carioca ou preto)

☐ 2 colheres de sopa cheias
ou 1 colher de servir cheia.

☐ 4 colheres de sopa cheias
ou 2 colheres de servir cheias ou 1 concha pequena cheia ou 1 concha média rasa.

☐ 6 colheres de sopa cheias
ou 2 colheres de servir cheias ou 1 concha pequena cheia ou 1 concha média rasa.

☐ 8 colheres de sopa
ou 4 colheres de servir cheias 2 conchas pequenas cheias ou 2 conchas médias rasas.

CARNE | FRANGO

☐ 4 colheres de sopa rasas de carne moída
ou 1 sobrecoxa de frango grande sem pele cozida ou assada ou 2 coxas de frango médias sem pele cozidas ou grelhadas ou 1 filé pequeno de frango grelhado ou cozido ou 1 ½ ovo de galinha cozido ou mexido (sem gordura) ou ½ bife médio grelhado/cozido inteiro ou em tiras ou 2 colheres de sopa de carne picada.

☐ 4 colheres de sopa cheias de carne moída
ou 2 sobrecoxas grandes de frango sem pele cozidas ou assadas ou 4 coxas médias de frango sem pele cozidas ou grelhadas ou 1 ½ filé pequeno de frango grelhado ou cozido ou 2 ovos de galinha cozido ou mexido (sem gordura) ou 1 bife médio grelhado/cozido inteiro ou em tiras ou 1 fatia média de posta branca/lagarto cozido ou 3 colheres de sopa cheias de carne picada.

☐ 6 colheres de sopa cheias de carne moída
ou 3 sobrecoxas grandes de frango sem pele cozidas ou assadas ou 4 coxas grandes de frango sem pele cozidas ou grelhadas ou 1 ½ filé médio de frango grelhado ou cozido ou 2 ovos de galinha cozido ou mexido (sem gordura) ou 1 ½ bife médio grelhado/cozido inteiro ou em tiras ou 1 ½ fatia média de posta branca/lagarto cozido ou 4 colheres de sopa cheias de carne picada.

☐ 1 filé médio de frango grelhado ou cozido
ou 3 colheres de sopa cheias de carne moída ou 1 sobrecoxa grande de frango sem pele cozida ou assada ou 3 coxas médias de frango sem pele cozidas ou grelhadas ou 2 ovos de galinha cozido ou mexido (sem gordura) ou 1 bife pequeno grelhado/cozido inteiro ou em tiras ou 1 fatia de posta branca/lagarto cozido ou 2 colheres de sopa cheias de carne picada.

☐ meio filé médio de frango grelhado ou cozido
ou 2 colheres de sopa rasas de carne moída ou 1 sobrecoxa média de frango sem pele cozida ou grelhada ou 1 coxa de frango média sem pele cozida ou grelhada ou 1 ovo de galinha cozido ou mexido (sem gordura).

VEGETAIS

Consumo à vontade (sem óleo, gordura ou molhos)

Brócolis, couve-flor, espinafre, agrião, alface, pimentão, rabanete, abobrinha, acelga, berinjela, chicória, couve, mostarda, nabo, pepino, repolho, tomate, almeirão, jiló e rúcula.

Demais vegetais:

Coma conforme indicado em seu Plano Alimentar.

FRUTAS

1 $\frac{1}{2}$ colher de sopa de abacate ou 1 fatia média de mamão ou 1 fatia de abacaxi ou 3 unidades de ameixa-preta ou 4 unidades de ameixa vermelha ou 1 unidade de banana ou 1 unidade de caqui ou 2 unidades de carambola ou 4 unidades de damasco seco ou $\frac{1}{2}$ unidade de fruta-do-conde ou $\frac{1}{2}$ unidade de goiaba ou 2 unidades de kiwi ou 1 laranja ou 4 limões ou 1 unidade de maçã ou $\frac{1}{2}$ unidade de mamão-papaia ou 5 fatias de manga ou $\frac{1}{2}$ xícara de chá de suco puro de maracujá ou 2 fatias de melancia ou 2 fatias de melão ou 10 unidades de morango ou 1 unidade de pera ou 2 unidades de pêssego ou $\frac{1}{2}$ xícara de chá de salada de frutas ou $\frac{3}{4}$ de copo tipo requeijão de suco de frutas natural ou polpa ou 1 unidade de tangerina/mexerica ou 22 uvas comuns ou 8 uvas-italia ou rubi. (1 copo de requeijão corresponde à 240 ml).

APÊNDICE 8

Barreiras para alimentação saudável e emagrecer

Quais são suas barreiras para ter uma alimentação saudável e para emagrecer?

Situação	Resposta			Soluções
1. Quando seus esforços para controlar sua alimentação não resultam no emagrecimento, a Sra. tem problemas em se manter motivada.	<input type="checkbox"/> Não é verdade	<input type="checkbox"/> Um pouco de verdade	<input type="checkbox"/> Verdade	Observe os outros ganhos, como estar mais disposta.
				Controle o tamanho da porção.
				Fuja de alimentos muito calóricos. Ex: frituras e chocolate.
2. Quando a Sra. está com muita fome é muito difícil controlar o que a Sra. come.	<input type="checkbox"/> Não é verdade	<input type="checkbox"/> Um pouco de verdade	<input type="checkbox"/> Verdade	Não pule refeições.
				Respire fundo e coma devagar!
				Coma a salada antes.
3. Quando a Sra. começa a comer algo que acha que não deveria, não consegue mais parar.	<input type="checkbox"/> Não é verdade	<input type="checkbox"/> Um pouco de verdade	<input type="checkbox"/> Verdade	Separe uma porção e guarde o resto.
				Coma devagar!
				Evite comprar ou compre porções menores!
4. Sua vida é tão corrida que a Sra. tem dificuldades em comer apropriadamente.	<input type="checkbox"/> Não é verdade	<input type="checkbox"/> Um pouco de verdade	<input type="checkbox"/> Verdade	Se organize para compras semanais de frutas, verduras e legumes.
				Lave as frutas e os vegetais logo após as compras.
				Deixe alimentos saudáveis à vista.
5. Muitas vezes a Sra. não tem alimentos saudáveis onde a Sra. come (em casa, no trabalho ou no restaurante).	<input type="checkbox"/> Não é verdade	<input type="checkbox"/> Um pouco de verdade	<input type="checkbox"/> Verdade	Faça uma quantidade maior de arroz, feijão e carne e congele. Tenha frutas e vegetais lavados na geladeira.
				Escolha: salada + arroz + feijão + pouca carne.
				Prefira restaurante de comida à quilo.

Ervas e Temperos

Açafrão	Esta especiaria é utilizada para condimentar o arroz, molhos de peixe e alguns pratos de frango e marisco.
Alecrim	Fresco ou desidratado, é utilizado para perfumar carnes, aves e peixes grelhados, sopas, molhos, legumes, arroz e saladas.
Alho	Fresco ou desidratado, pode ser usado em diversos alimentos à gosto.
Cebola	Fresca ou desidratada, pode ser usada em diversos alimentos à gosto.
Coentro	As folhas de coentro são excelentes para temperar pratos de legumes, sopas, arroz, saladas, peixes e aves.
Colorau	Utilizado como corante para dar cor vermelho-alaranjada aos alimentos. Utilize em carnes, aves, peixes, sopas e molhos em geral.
Cominho pó	Indicado para condimentar sopas, assados, molhos e outros pratos.
Curry	É usado em molhos, carnes, peixes, aves, sopas e pratos com ovos e saladas. Tempero muito utilizado em receitas indianas.
Ervas de Provence	É uma mistura de ervas. Combina com carnes brancas e peixes, principalmente grelhados, com saladas ou legumes.
Ervas Finas	É uma mistura de ervas. Geralmente, salsa, cebolinha e manjerona. É utilizada em vegetais refogados, patês de ricota e omeletes com vegetais.
Louro	Utilize em sopas e molhos diversos. Pode também ser adicionado em marinadas, caldos de peixe, feijão e recheios.
Manjerição	Utilize em peixes assados, frango, omeletes, pratos com tomate, recheios e molhos.
Manjerona	Utilize em peixes, frango, sopas, refogados e omeletes.
Mostarda em grãos ou pó	Os grãos ficam excelentes em saladas de folhas e legumes. Em pó, é usada para molhos e temperos de carnes bovinas e suína (lombo).
Noz-Moscada	Esta especiaria valoriza muitos pratos, sobretudo os mais simples. Purê de batata, peixe e molhos são alguns dos alimentos que combinam.
Orégano	Use em tomates, carnes, frango, peixes, ensopados, grelhados ou assados.
Páprica doce	De cor vermelho vivo, a páprica doce é usada para dar cor em alimentos de cor clara, como peixes, carnes brancas, sopas e molhos.
Páprica picante	Salpique sobre peixes, carnes, aves, batatas, ovos e molhos.
Sálvia	Folhas longas e aveludadas com um aroma intenso, ideal para refogados e receitas com feijão branco.
Salsinha e Cebolinha	Frescas ou desidratadas, podem ser usadas em todos os alimentos.
Tomilho	Utilize em peixes, frango, vegetais cozidos e em saladas em geral.

Colaboração POP HOUSE | R. Mariano Torres, 948 | Centro | 41. 3224.7703 | Curitiba PR

Orientações alimentares para terminar bem 2011 e começar 2012 com tudo!

Professora Nutricionista Louise Farah Saliba CRN8 695 |
Colaboração do Chef Alexandre Dhein | Curso de Gastronomia | PUCPR

Economize as calorias durante o dia

Se você tem festa neste dia, coma menos e mais leve, antes e depois do seu evento.

Coma consciente

Escolha para comer somente aquilo que você adora. Coma devagar para aproveitar cada pedacinho. Se vai comer calorias a mais, não coma qualquer coisa!

Evite conversar e comer ao mesmo tempo. Você pode comer muito e não aproveitar o que come!

Prefira saladas cruas e de folhas

Evite as saladas com maionese e creme de leite. O azeite é saudável, mas também é calórico.

Prefira as carnes magras

Escolha as carnes, brancas ou vermelhas, com menos gordura. Retire a pele aparente.

Escolha acompanhamento mais leves

Legumes são as melhores opções. Arroz branco é menos calórico que os elaborados.

Sobremesa

Escolha as frutas ou escolha: sobremesa ou bebida alcoólica! Sempre uma porção pequena.

Beba água

Evite as bebidas alcoólicas. Se beber, faça com moderação. Intercale com água.

Atenção aos alimentos muito calóricos

Empadão | Rabanada | Folhados | Farofa | Sobremesas Cremosas | Frituras

APÊNDICE 9

Sugestões para uma vida mais ativa. Cada caloria conta para o emagrecimento!

Edina Camargo | Cref 008347-G/PR |
Professora de Educação Física | Especialista em Atividade Física e Saúde

Faça atividade física regularmente

A melhor atividade física para você é aquela que seja segura, prazerosa e acessível.

Respeite seu limite

Inicie com alongamentos e caminhadas, aos poucos, acrescente novos desafios como exercícios de força e trotes.

Parque | Praça | Academia ao ar livre

Descubra o Parque, Praça ou Academia ao ar livre mais perto da sua casa. Eles são bons locais para caminhadas, alongamentos e exercícios.

Roupas | Tênis | Hidratação

Use roupas e tênis confortáveis.

Beba água durante o dia; carregue e beba uma garrafinha de água durante o exercício.

Companhia | Amigos e Família

Fazer atividade física sozinha pode ser bom, mas se você tiver companhia será melhor ainda!

Professor de Educação Física

Procure um Professor de Educação Física, ele é o profissional indicado para ajudar você.

Frequência alélica das participantes do estudo.

TABELA 1 - Frequência alélica dos polimorfismos Arg16Gly e Gln27Glu do gene *ADRB2*; Trp64Arg do gene *ADRB3* e Leu72Met do gene *GHRL* das adultas obesas participantes do estudo de intervenção dietética para a perda de peso Curitiba, Brasil, 2011.

Gene e Polimorfismo	n	Frequência do alelo ± Erro padrão
<i>ADRB2</i>		
Polimorfismo Arg16Gly (n=139)		
Arg	120	0,432± 0,03
Gly	158	0,568± 0,03
Polimorfismo Gln27Glu (n=136)		
Gln	193	0,710± 0,02
Glu	79	0,290± 0,02
<i>ADRB3</i>		
Polimorfismo Trp64Arg (n=131)		
Trp	229	0,874± 0,01
Arg	33	0,126± 0,01
<i>GHRL</i>		
Polimorfismo Leu72Met (n=133)		
Leu	227	0,853± 0,01
Met	39	0,147± 0,01

Nível socioeconômico das participantes do estudo.

TABELA 2 - Classe econômica em categorias conforme associação brasileira de empresas de pesquisa (ABEP, 2010) das participantes (n=118) da intervenção dietética com restrição energética em Curitiba, 2011.

Classe	n	%
A2	4	3,4
B1	20	16,9
B2	47	39,8
C1	36	30,5
C2	7	5,9
D	4	3,4

TABELA 3 - Classificação do nível socioeconômico das participantes (n=118) da intervenção dietética com restrição energética em Curitiba, 2011.

Nível socioeconômico	n	%
Alto ^a	71	60,2
Baixo/médio ^b	47	39,8

a= classe A ou; b= classe C, D ou E. Classes conforme ABEP (2010).

Dados antropométricos e bioquímicos das participantes do estudo e polimorfismos dos genes *ADRB2*, *ADBR3* e *GHRL* antes e após a intervenção.

TABLE 4 - Anthropometrical and biochemical data of non-carriers and carriers of the polymorphisms Arg16Gly and Gln27Glu of gene *ADRB2*; Trp64Arg of gene *ADRB3* and Leu72Met of gene *GHRL* from obese adult women pre and post dietary intervention for weight loss in Curitiba, Brazil, 2011.

	PRE-INTERVENTION						POST-INTERVENTION									
	Non-carriers			Carriers			Non-carriers			Carriers			Non-carriers		Carriers	
	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD	N	Mean	SD	Difference	p	Difference	p
ADRB2 gene Arg16Gly																
BMI (kg/m ²)	22	36.3	5.3	87	35.8	4.9	22	35.5	5.7	87	34.9	4.9	-0.8	0.003 ^a	-0.9	<0.001 ^a
Waist circumference (cm)	22	97.0	9.2	86	97.2	9.5	22	93.4	10.6	86	93.2	11.4	-3.5	0.005 ^a	-4.0	<0.001 ^a
Cholesterol (mg/dL)	20	193.6	41.5	93	193.3	36.7	20	189.2	35.9	93	188.0	34.6	-4.4	0.140	-5.3	0.015 ^a
Triglyceride (mg/dL)	20	112.0	42.5	92	146.8	65.4	20	118.6	61.4	92	150.0	77.7	6.6	0.455	3.2	0.789
HDL-cholesterol (mg/dL)	20	52.0	11.2	92	52.4	13.0	20	47.6	11.2	92	47.9	11.0	-4.5	0.004 ^a	-4.5	<0.001 ^a
LDL-cholesterol (mg/dL)	20	118.7	33.7	92	111.3	29.2	20	117.5	32.8	92	109.6	27.9	-1.3	0.513	-1.6	0.219
ADRB2 gene Gln27Glu																
BMI (kg/m ²)	56	37.4	5.7	50	34.5	3.5	56	36.4	5.8	50	33.7	3.7	-1.0	<0.001 ^a	-0.8	<0.001 ^a
Waist circumference (cm)	55	98.9	10.4	50	95.2	8.1	55	95.4	12.3	50	90.7	9.2	-3.6	<0.001 ^a	-4.5	<0.001 ^a
Cholesterol (mg/dL)	60	196.6	38.1	51	188.0	37.1	60	192.8	35.4	51	181.8	33.6	-3.8	0.079	-6.2	0.046 ^a
Triglyceride (mg/dL)	59	133.6	50.2	51	149.6	76.4	59	137.4	58.0	51	151.7	92.8	3.8	0.651	2.1	0.487
HDL-cholesterol (mg/dL)	59	53.8	14.1	51	50.1	10.3	59	48.7	11.4	51	46.3	9.9	-5.1	<0.001 ^a	-3.9	<0.001 ^a
LDL-cholesterol (mg/dL)	59	115.8	30.4	51	107.8	30.1	59	116.1	30.1	51	104.8	26.9	0.3	0.856	-2.9	0.156
ADRB3 gene Trp64Arg																
BMI (kg/m ²)	78	36.2	5.0	23	35.3	5.4	78	35.3	5.1	23	34.5	5.7	-0.9	<0.001 ^a	-0.8	<0.001 ^a
Waist circumference (cm)	77	97.7	9.7	23	94.6	9.1	77	94.2	11.6	23	89.6	10.3	-3.6	<0.001 ^a	-5.0	<0.001 ^a
Cholesterol (mg/dL)	80	191.9	38.2	24	191.2	34.9	80	187.0	36.6	24	185.0	30.7	-4.9	0.047 ^a	-6.2	0.026 ^a
Triglyceride (mg/dL)	79	142.2	68.7	24	134.0	49.4	79	145.1	80.8	24	134.5	60.8	2.9	0.941	0.4	0.568
HDL-cholesterol (mg/dL)	79	51.2	11.4	24	56.0	16.0	79	46.8	10.6	24	51.0	13.0	-4.4	<0.001 ^a	-5.0	0.007 ^a
LDL-cholesterol (mg/dL)	79	112.1	32.1	24	108.0	22.3	79	110.7	31.3	24	106.8	21.1	-1.4	0.394	-1.2	0.383
GHRL gene Leu72Met																
BMI (kg/m ²)	75	35.9	4.8	29	35.6	4.7	75	35.1	5.0	29	34.7	5.0	-0.8	<0.001 ^a	-0.9	<0.001 ^a
Waist circumference (cm)	75	96.9	9.4	28	96.7	8.9	75	92.5	11.0	28	94.5	11.7	-4.3	<0.001 ^a	-2.2	0.005 ^a
Cholesterol (mg/dL)	78	190.3	36.6	29	194.9	39.4	78	182.9	33.4	29	195.4	36.9	-7.3	0.002 ^a	0.5	0.846
Triglyceride (mg/dL)	77	135.9	55.7	29	151.9	82.5	77	137.6	73.6	29	160.6	85.6	1.7	0.648	8.7	0.523
HDL-cholesterol (mg/dL)	77	52.6	13.0	29	51.6	12.0	77	47.9	11.8	29	47.6	9.2	-4.7	<0.001 ^a	-4.0	0.003 ^a
LDL-cholesterol (mg/dL)	77	110.1	28.8	29	112.9	34.0	77	107.0	26.4	29	115.3	34.6	-3.1	0.082	2.3	0.863

^ap<0.05 (Wilcoxon test for comparing means pre and post-intervention)